

ANÁLISE DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DO CORAÇÃO ATRAVÉS DO PLANO DE FASE

Luciana Moisés Camilo

Dissertação de Mestrado em Ciências Fisiológicas

Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas
Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória, maio de 2008

Camilo, Luciana Moisés, 1980

Análise das propriedades mecânicas do miocárdio através do Plano de Fase.

[Vitória] 2008.

XIV, 117 p. 29;7 cm (UFES, M.S., Ciências Fisiológicas, 2008)

Dissertação, Universidade Federal do Espírito Santo, PPGCF

1. Plano de Fase 2. Hipertrofia cardíaca 3. Banda ventricular helicoidal 4.
Trabalho sistólico

Análise das propriedades mecânicas do miocárdio através do Plano de Fase

Luciana Moisés Camilo

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Apresentada e aprovada em 09/ 05/2008, por:

Prof. Dr. Dalton Valentim Vassallo – Orientador, UFES.

Prof^a. Dr^a. Regina Maria de Aquino – Co-orientadora, UFES.

Prof^a. Dr^a. Ivanita Stefanon – UFES.

Prof. Dr. Paulo José Ferreira Tucci – UNIFESP.

Coordenador do PPGCF:

Prof. Dr. Luiz Carlos Schenberg

Universidade Federal do Espírito Santo

Vitória, 2008

“Só existem dois dias no ano que nada pode ser feito. Um se chama ontem e o outro se chama amanhã, portanto, hoje é o dia certo para amar, acreditar, fazer e principalmente viver.”

Dalai Lama

Dedico esse trabalho aos meus pais, ao Marcello, á Marina e ao neném que está chegando.

Agradecimentos

Ao querido chefe **Dalton Valentim Vassallo**, os maiores e mais sinceros agradecimentos. Obrigada por ter acreditado na minha capacidade de trabalho e me aceitar como orientanda nesse projeto tão especial do qual eu me orgulho muito. Obrigada pela dedicação, pelo envolvimento, pelas orientações e por estar sempre ao meu lado nos momentos difíceis e nos de alegria, você é mais que um orientador, você é um grande amigo que eu tive a sorte de conhecer, conviver e admirar.

À **Ivanita**, nossa querida “Chefa”, uma mulher admirável por sua inteligência, competência, dedicação e amor ao que faz. Obrigada por ter me acolhido no LEMC, por toda amizade, paciência e ensinamentos.

À dócil **Larissa**, minha ICzinha preferida. Obrigada pela grande ajuda na realização deste trabalho, pelo apoio, pelas horas de dedicação e capricho nos experimentos.

À Profa. Dra. **Regina Maria de Aquino**, co-orientadora deste trabalho, pela paciência, dedicação e principalmente, por ter abrilhantado e lapidado este trabalho com perfeição e carinho.

Ao Dr. **Hélio Monteiro de Moraes** por ter fornecido os artigos e as idéias mais recentes sobre a banda ventricular helicoidal que ajudaram a embasar e a tornar o trabalho mais interessante.

Aos colegas de laboratório Fabiana (Creide), Du, Edna, Juliana, Fernanda, Keli, Thaís, Gabriel, Altemar, Lorena, Mirian, Viviane, Alessandra, Rogério, Guilherme, Patrick, Antídio, Nelson, Karina, Núbia, Priscila, Giulia, Franck, Aurélia, Liliane, Lélia.

Aos Professores da pós-graduação pelos ensinamentos.

Aos funcionários Fonseca e Cláudia pelo apoio técnico e burocrático indispensáveis.

Aos meus pais **Ciro Camilo** e **Elisabeth Moisés Camilo** que não só me deram a vida, mas me ensinaram a vivê-la com dignidade. Iluminaram os caminhos obscuros com afeto e dedicação para que eu trilhasse sem medo e cheia de esperanças. Agradecê-los por ter chegado até aqui é uma emoção que jamais seria traduzida por palavras. Amo vocês!

Ao **Marcello**, o homem da minha vida, pai dos meus filhos, que acredita no meu potencial sempre me incentivando e me animando. Obrigada pelo carinho, paciência, companherismo e por tornar completamente viável este sonho, pois grande parte desta realização eu devo a você.

Aos familiares, pelo amor, carinho, pela torcida incessante e que apesar da distância continuam me incentivando.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas	18
Lista de Siglas e Abreviaturas	20
Resumo	22
Abstract.....	25
Introdução	28
1. Disfunção sistólica.....	30
1.1. Hipertrofia cardíaca vs disfunção sistólica	30
2. Disfunção diastólica	32
2.1. Hipertrofia cardíaca vs disfunção diastólica	33
3. Plano de Fase (PF)	37
Objetivos	42
Materiais e Métodos.....	44
1. Animais	44
2. Grupos Experimentais.....	44
2.1. Obtenção dos grupos experimentais.....	44
2.1.1. Grupo Controle	44
2.1.2. Grupo SHR.....	44
2.1.3. Grupo ISO	44
2.1.4. Grupo Veículo	45
3. Preparação do coração isolado	45
4. Drogas e soluções utilizadas	45
5. Medidas Realizadas	46
6. Protocolo experimental.....	46
7. Análises Ponderais	47
8. Construção e análise do Plano de Fase	47
9. Análise estatística.....	47
Resultados.....	50
1. Dados Ponderais.....	50
2. Análise do PF no estado basal.....	51
3. Regulação Heterométrica	52
3.1 Curva de função ventricular	52
3.1.1. Análise da Pressão Sistólica Isovolumétrica	52
3.1.2. Análise da $dP/dt_{máx}$	54
3.1.3. Análise da $dP/dt_{mín}$	55
3.1.4. Efeito do estiramento analisado pelo PF	56
3.1.5. Análise de θ	57
3.1.6. Análise da APF	59
4. Regulações homeométricas	61
4.1. Curva de Frequência	61
4.1.1. Análise da Pressão Sistólica Isovolumétrica	61

4.1.2. Análise da $dP/dt_{máx}$	63
4.1.3. Análise da $dP/dt_{mín}$	64
4.1.4. Efeito da frequência analisado pelo PF.....	66
4.1.5. Análise de θ	67
4.1.6. Análise da APF.....	69
4.2. Resposta inotrópica ao Cálcio extracelular	71
4.2.1. Análise da Pressão Sistólica Isovolumétrica	71
4.2.2. Análise da $dP/dt_{máx}$	72
4.2.3. Análise da $dP/dt_{mín}$	73
4.2.4. Efeito da concentração de cálcio extracelular analisado pelo PF	74
4.2.5. Análise de θ	75
4.2.6. Análise da APF	77
4.3. Resposta β-adrenérgica	79
4.3.1. Análise da Pressão Sistólica Isovolumétrica	79
4.3.2. Análise da $dP/dt_{máx}$	80
4.3.3. Análise da $dP/dt_{mín}$	80
4.3.4. Análise do Tempo de Relaxamento (TR).....	81
4.3.5. Efeito do isoproterenol analisado pelo PF	82
4.3.6. Análise de θ	83
4.3.7. Análise da APF	84
5. Correlação de θ com as variáveis PS, $dP/dt_{máx}$ e $dP/dt_{mín}$.....	86
Discussão	89
1. A banda miocárdica ventricular helicoidal (BMVH) de Torrent-Guasp	91
2. Curva de função ventricular	98
3. Resposta inotrópica ao Ca^{+2} extracelular	100
4. Resposta β -adrenérgica	102
5. Curva de frequência	104
Conclusão	106
Referências	108

Lista de Figuras

Página

Figura 1: Contorno tridimensional do tempo (eixo-X) vs pressão intraventricular esquerda (eixo-Y) vs dP/dt (eixo-Z) para a construção do plano de fase através da projeção (dP/dt vs P).

37

Figura 2: Plano de Fase de um ciclo cardíaco obtido em humano via cateterismo. A porção terminal da queda de pressão isovolumétrica determina a constante de tempo (τ) pela regressão linear (inclinação = $-1/\tau$). A linha pontilhada mostra o melhor ajuste da regressão.

39

Figura 3: Registro típico. (A) estabilização, (B) curva de função ventricular, (C) curva de frequência, (D) $[Ca^{+2}]_e = 1,25$ mM, (E) $[Ca^{+2}]_e = 0,62$ mM, (F) $[Ca^{+2}]_e = 2,50$ mM, (G) medida basal antes da aplicação de isoproterenol, (H) resposta β -adrenérgica.

47

Figura 4: Comparação entre os grupos da Inclinação final do plano de fase (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) obtida após estabilização da preparação com PD de 10mmHg. Os dados são expressos em média \pm EPM. ^a $p < 0,05$ vs controle, ^b $p < 0,05$ vs veículo. ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher.

51

Figura 5: Comparação entre os grupos do \log_{10} da área do plano de fase ($\sum dP/dt \times P$) obtida após estabilização da preparação com PD de 10mmHg. Os dados são expressos em média \pm EPM. ^a $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher.

51

Figura 6: Registro típico da curva de função ventricular.

52

Figura 7: Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) das PSI durante a curva de função

ventricular. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 53

Figura 8: Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da $+dP/dt$ durante a curva de função ventricular. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 54

Figura 9: Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da dP/dt_{\min} durante a curva de função ventricular. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 55

Figura 10: Efeito do estiramento analisado pelo plano de fase de uma unidade experimental do grupo SHR. As alças da esquerda para a direita representam os planos de fase obtidos nas PDs de 0 até 30mmHg. 56

Figura 11: Inclinações do PF (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) obtidas durante a curva de Frank Starling. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs PD=0mmHg do mesmo grupo, ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher. 57

Figura 12: Comparação entre os grupos Controle (n=7) e SHR (n=7) das inclinações (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) durante a curva de função ventricular. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 58

Figura 13. Comparação entre os grupos Veículo (n=6) e ISO (n=9) das inclinações (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) durante a curva de função 58

ventricular. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs veículo. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

Figura 14. Log₁₀ das áreas ($\sum dP/dt \times P$) obtidas durante a curva de função ventricular. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs PD=0mmHg do mesmo grupo, ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

59

Figura 15. Comparação entre os grupos Controle e SHR do log₁₀ das áreas do PF ($\sum dP/dt \times P$) durante a curva de função ventricular. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

60

Figura 16. Comparação entre os grupos Veículo e ISO do log₁₀ das áreas do PF ($\sum dP/dt \times P$) durante a curva de função ventricular. Os dados são expressos em média \pm EPM

60

Figura 17. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da PSI durante a curva de frequência. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

61

Figura 18: Registro típico da curva de frequência.

62

Figura 19. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da $dP/dt_{\text{máx}}$ durante a curva de frequência. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

63

Figura 20. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da $dP/dt_{\text{mín}}$ durante a curva de frequência. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

65

Figura 21. Efeito da frequência analisado pelo plano de fase de uma unidade experimental do grupo SHR. As alças da direita para a esquerda representam os planos de fase obtidos nas frequências de 200 a 450 bpm. 66

Figura 22. Inclinações do plano de fase (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) obtidas durante a curva de frequência. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p<0,05$ vs 200bpm do mesmo grupo, ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 67

Figura 23. Comparação entre os grupos Controle e SHR das inclinações do PF (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) durante a curva de frequência. Os dados são expressos em média \pm EPM. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 68

Figura 24. Comparação entre os grupos Veículo e ISO grupos das inclinações do PF (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) durante a curva de frequência. Os dados são expressos em média \pm EPM. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 68

Figura 25. \log_{10} da área do plano de fase ($\sum dP/dt \times P$) obtidas durante a curva de frequência. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p<0,05$ vs 200bpm do mesmo grupo, ANOVA 1-via, *post hoc* Tukey. 69

Figura 26. Comparação entre os grupos Controle e SHR do \log_{10} das áreas do PF ($\sum dP/dt \times P$) durante a curva de frequência. Os 70

dados são expressos em média \pm EPM. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

Figura 27. Comparação entre os grupos Veículo e ISO do \log_{10} das áreas do PF ($\sum dP/dt \times P$) durante a curva de frequência. Os dados são expressos em média \pm EPM. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 70

Figura 28. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da PSI durante a curva concentração resposta ao cálcio. Os dados são expressos em média \pm EPM. *p<0,05 vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 71

Figura 29. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da dP/dt_{\max} durante a curva concentração resposta ao cálcio. Os dados são expressos em média \pm EPM. *p<0,05 vs controle, **p<0,05 vs Veículo. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 72

Figura 30. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da dP/dt_{\min} durante a curva concentração resposta ao cálcio. Os dados são expressos em média \pm EPM. *p<0,05 vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 73

Figura 31. Efeito do estiramento analisado pelo plano de fase de uma unidade experimental do grupo SHR. As alças da esquerda para a direita representam os planos de fase obtidos nas concentrações de 0.62; 1.25 e 2.5 mM, respectivamente. 74

Figura 32. Inclinações do plano de fase (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) obtidas durante a curva de cálcio. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Os dados são expressos em média \pm EPM. * p<0,05 vs 0,62 mM do mesmo grupo, ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 75

- Figura 33.** Comparação entre os grupos Controle e SHR das inclinações do PF (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) durante a curva de cálcio. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 76
- Figura 34.** Comparação entre os grupos Veículo e ISO das inclinações do PF (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) durante a curva de cálcio. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 76
- Figura 35.** \log_{10} da área do plano de fase ($\sum dP/dt \times P$) obtidas durante a curva de cálcio. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs 0,62 mM do mesmo grupo, ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher. 77
- Figura 36.** Comparação entre os grupos controle e SHR do \log_{10} das áreas do PF ($\sum dP/dt \times P$) durante a curva de cálcio. Os dados são expressos em média \pm EPM. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 78
- Figura 37.** Comparação entre os grupos Veículo e ISO do \log_{10} das áreas do PF ($\sum dP/dt \times P$) durante a curva de cálcio. Os dados são expressos em média \pm EPM. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher. 78
- Figura 38:** Tempo de relaxamento na situação basal (b) e após a administração de isoproterenol (i) dos grupos Controle (Ct), Veículo, ISO e SHR. Teste *t de Student* com * $p < 0,05$ vs b do mesmo grupo. 81
- Figura 39.** Efeito do isoproterenol analisado pelo plano de fase de uma unidade experimental do grupo SHR. A alça menor representa o plano de fase obtido antes da aplicação do isoproterenol e a alça 82

maior representa o plano de fase após a administração de isoproterenol (10^{-5} M).

Figura 40. Comparação da inclinação final do plano de fase (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) entre antes e após a dose de isoproterenol em cada grupo. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Variação percentual entre parênteses. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs antes do mesmo grupo, ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

83

Figura 41. Comparação da área do plano de fase ($\sum dP/dt \times P$) entre antes e após a dose de isoproterenol em cada grupo. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Variação percentual entre parênteses. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs basal do mesmo grupo, ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

84

Figura 42. Comparação dos aumentos percentuais da área do plano de fase ($\sum dP/dt \times P$) após a dose de isoproterenol em cada grupo. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Variação percentual entre parênteses. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs ISO, ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

85

Figura 43. Correlação da pressão sistólica isovolumétrica (PSI) com a inclinação final do plano de fase (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico)

86

Figura 44. Correlação da $dP/dt_{\text{máx}}$ com a inclinação final do plano de fase (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico)

87

Figura 45. Correlação da dP/dt_{\min} com a inclinação final do plano de fase (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico)

87

Figura 46: Banda miocárdica ventricular. A banda se estende da artéria pulmonar até a aorta e na porção medial sofre uma torção de 180°

91

Lista de Tabelas

Tabela 1. Dados ponderais dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.	52
Tabela 2. Pressão Sistólica Isovolumétrica (PSI) obtida pela curva de função ventricular dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.	55
Tabela 3. Valores absolutos da $dP/dt_{\text{máx}}$ obtida pela curva de função ventricular dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.	56
Tabela 4. Valores absolutos da $dP/dt_{\text{mín}}$ obtida pela curva de função ventricular dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.	57
Tabela 5. Pressão Sistólica Isovolumétrica (PSI) obtida pela curva de frequência dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.	63
Tabela 6. Valores absolutos da $dP/dt_{\text{máx}}$ obtida pela curva de frequência dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.	65
Tabela 7. Valores absolutos da $dP/dt_{\text{mín}}$ obtida pela curva de frequência dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.	66
Tabela 8. Pressão Sistólica Isovolumétrica (PSI) obtida pela curva de cálcio dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.	72
Tabela 9. Valores absolutos de $dP/dt_{\text{máx}}$ obtida pela curva de cálcio dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.	73
Tabela 10. Valores absolutos de $dP/dt_{\text{mín}}$ obtida pela curva de frequência dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.	74

Tabela 11. Pressão sistólica isovolumétrica (PSI) obtida antes e após a aplicação de Isoproterenol (10^{-5} mM) dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.	80
Tabela 12. Valores absolutos de $dP/dt_{\text{máx}}$ obtida antes e após a aplicação de Isoproterenol dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.	81
Tabela 13. Valores absolutos de $dP/dt_{\text{mín}}$ obtida antes e após a aplicação de Isoproterenol dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.	81

Lista de Siglas e Abreviaturas

AMPc – 3'5'-monofosfato cíclico de adenosina
APF – área do plano de fase
BMVH – banda miocárdica ventricular helicoidal
C – controle
F – frequência cardíaca
PC – peso corporal
PVD – peso do ventrículo direito
PVE – peso do ventrículo esquerdo
PP – peso do pulmão
PF – plano de fase
PD – pressão diastólica
PSI – pressão sistólica isovolumétrica
PKA – proteína quinase dependente de AMPc
SHR – rato espontaneamente hipertenso
 Θ – inclinação final do plano de fase
V – veículo

RESUMO

Resumo

O plano de fase (PF) é um gráfico que plota uma função, como a pressão ventricular (P) nas abcissas contra a sua derivada temporal (dP/dt) nas ordenadas. Uma propriedade deste PF é que a porção final forma um segmento de reta e sua inclinação (Θ) é uma constante de tempo que traduz uma constante visco-elástica do músculo, cujo valor aumenta com a rigidez. Segundo um modelo matemático ideal de aproximação a partir da curva de pressão isovolumétrica, tem-se que $APF = P \times dP/dt$, onde APF é a área do PF. Sabendo-se que o trabalho cardíaco externo (T_{ext}) é o produto da pressão pela variação de volume, a equação pode ser reescrita da seguinte maneira:

$$T_{ext} = P \cdot \frac{dV}{dP} \cdot \frac{dP}{dt}$$

Uma vez que neste modelo experimental o volume é constante, temos que a APF é proporcional ao T_{ext} . O objetivo deste trabalho foi comparar o comportamento de Θ e da APF entre corações de ratos normais, hipertensos e hipertrofiados e avaliar as influências das intervenções inotrópicas sobre essas variáveis. Para isso, foram utilizados ratos machos Wistar e espontaneamente hipertensos (SHR), pesando entre 210 e 280g, divididos em 4 grupos: (C) Wistar controle (n=7), SHR (n=7), (ISO) ratos com hipertrofia induzida por Isoproterenol (0.3 mg/Kg/dia, n=9) e (V) ratos tratados apenas com veículo (n=6). Os animais foram anestesiados com Tiopental (50mg/Kg) e após toracotomia. Os corações foram removidos e perfundidos através do coto aórtico pela técnica de Langendorff com solução de Krebs-Henseleit. Foram registradas a curva de pressão isovolumétrica do VE e a dP/dt para a construção do PF. O protocolo experimental seguido foi: 1) Curva de função ventricular; 2) Variação da frequência de estimulação; 3) Resposta inotrópica ao Ca^{+2}_{ext} nas concentrações de 0.62, 1.25 e 2.5 mM; 4) Resposta inotrópica ao isoproterenol (0,1 mL; 10^{-5} M). As medidas de Θ e da APF foram obtidas através do software Autocad. Os resultados estão expressos como média \pm EPM. Análise estatística: ANOVA 1 ou 2 vias seguidas de *post-hoc* Fisher; significante para $p < 0,05$.

As inclinações obtidas após estabilização da preparação com PD de 10 mmHg e durante a curva de função ventricular foram maiores nos grupos que apresentaram hipertrofia (SHR e ISO). O aumento da frequência de estimulação aumentou θ significativamente em todos os grupos, assim como o aumento da $[Ca^{+2}]$ e a administração de isoproterenol. A APF foi maior no grupo SHR em relação aos outros grupos. As intervenções inotrópicas positivas provocaram aumento proporcional da APF em todos os grupos. A curva de frequência e a menor concentração extracelular de cálcio resultaram na diminuição da APF.

A hipertrofia do ventrículo esquerdo em SHR e o tratamento crônico com ISO modificam a velocidade da queda de pressão isovolumétrica. Isto se traduziu por aumento da inclinação θ , refletindo a rigidez miocárdica. Com relação aos efeitos inotrópicos, o aumento da inclinação parece estar ligado mais diretamente ao aumento da velocidade da queda de pressão isovolumétrica, pela ação inotrópica atuante nos segmentos da banda miocárdica ventricular helicoidal (BMVH), especificamente no segmento ascendente para a fase diastólica. O comportamento da APF contextualizou as situações em que os corações foram submetidos, no que diz respeito ao T_{ext} .

ABSTRACT

Abstract

The phase plane (PP) is a plot of the ventricular pressure in the X-axis and its time derivative in the Y-axis. One of the PP properties is that the final portion is a straight line segment and its slope (Θ) is a time constant that might represent a visco-elastic constant of the muscle. We aimed to compare the behavior of Θ among normal, hypertensives and hypertrophied rat hearts and to evaluate the influences of inotropic interventions on Θ . According an ideal mathematical model of approach of the isovolumic pressure curve, is given that $PPA = P \times dP/dt$. As know that the external cardiac work (W_{ext}) is the time rate of change of work, PdV , the equation can be rewrite in the following way:

$$T_{ext} = P \cdot \frac{dV}{dP} \cdot \frac{dP}{dt}$$

Since in this experimental model the volume is constant, the PPA is proportional to the W_{ext} .

The objective of this work was to compare the behavior of Θ and PPA among normal, hypertensives and hypertrophied rats heart and to evaluate the influences of the inotropics interventions on these variables. We used isolated hearts perfused by the Langendorff technique (male Wistar and spontaneously hypertensive rats- SHR), weighing between 210 and 280g, divided in 4 groups: (C) Wistar Control (n=7); SHR (n=7); (ISO,) rats with Isoproterenol-induced hypertrophy (0.3mg/Kg/day, n=9); and (V) rats treated only with vehicle (soyan bean oil, n=6). The experimental protocol consisted of performing ventricular function curves, changes in stimulation frequency and external Ca^{+2} (0.5, 1.25 and 2.5 mM) and β -adrenergic stimulation (0.1mL; 10^{-5} M). Left ventricle isovolumic pressure curve and its first derivative (dP/dt) were registered for the construction of the PP. The measures of Θ and PPA were obtained by using the Autocad 2004 software. Results are expressed as mean \pm SEM. Statistical analysis: ANOVA 1 and/or 2 way; Fisher post-hoc test, significant for $p < 0,05$.

Slopes obtained after stabilization at DP of 10mmHg and during the performance of ventricular function curves were larger in the SHR and ISO groups.

The increase of the stimulation frequency significantly increased θ in all groups, as well as the increase of $[Ca^{+2}_{ex}]$ and the administration of isoproterenol. PPA was higher in SHR group than others. Positive inotropics interventions had provoked proportional increase of PPA in all groups. The increase of the stimulation frequency and the lower $[Ca^{+2}_{ex}]$ resulted in reduction of the PPA.

Myocardial left ventricular hypertrophy in SHR and the chronic treatment with ISO modify the speed of isovolumic pressure decay increasing the slope. Regarding the inotropic interventions the increase of the slope might be linked to the increase of speed of isovolumic pressure decay, due to inotropic action in the helical ventricular myocardial band (HVMB) segments, specifically the ascending segment that operates on diastolic phase. PPA behavior contextualized the situations where the hearts had been submitted, in respect to the W_{ext} .

INTRODUÇÃO

Introdução

A avaliação do desempenho cardíaco é uma prática fundamental, pois é de acordo com este desempenho que depende o fornecimento de oxigênio e nutrientes, bem como a remoção de dióxido de carbono e produtos de degradação do metabolismo orgânico em ação integrada entre os componentes do sistema cardiovascular. Uma série de doenças cardiovasculares requer uma análise funcional do coração, seja esta do músculo em si ou da bomba cardíaca como um todo para que se tenha uma abordagem clínica e terapêutica satisfatória.

Em geral, essas doenças cardiovasculares culminam com a manifestação da insuficiência cardíaca (IC), uma síndrome onde ocorre a incapacidade do coração em manter o débito cardíaco necessário ao metabolismo.

A IC é umas das principais razões de internação no mundo. Esta síndrome geralmente evoca a imagem de um coração dilatado com redução da função sistólica. Entretanto, cerca de 50% dos pacientes com IC têm a função sistólica normal ou apenas minimamente prejudicada (Grossman, 2000; Banerjee *et al.*, 2002). Dessa maneira, a IC pode ser classificada de acordo com a fase do ciclo cardíaco em que ocorre a disfunção: sistólica e/ou diastólica. A maioria dos casos de IC é conseqüente à progressiva deterioração da função contrátil miocárdica (disfunção sistólica). Entretanto, algumas vezes a insuficiência resulta de uma incapacidade dos compartimentos cardíacos de se expandirem de modo suficiente durante a diástole a fim de acomodarem um volume sanguíneo ventricular adequado (disfunção diastólica).

Para a avaliação da função cardíaca, o cateterismo se posiciona como padrão-ouro, apesar de que, atualmente, grande parte das informações são obtidas de modo não-invasivo. Dentre os métodos não-invasivos, a ecocardiografia tem-se mostrado particularmente útil, apresentando uma série de vantagens genéricas, como: boa relação custo/benefício, facilitando, com isso, estudos seqüenciais ou em populações maiores; portabilidade do equipamento, com possibilidade de realização em conjunto com outros métodos (por exemplo, hemodinâmica), à beira do leito ou no intra-operatório; relativamente pouco consumo de tempo para execução e interpretação; possibilidade de informações adquiridas em tempo real, durante todo o ciclo cardíaco, a respeito do comportamento estrutural e na repercussão nas

diferentes estruturas cardíacas envolvidas; e possibilidade de realização da análise do comportamento do fluxo sanguíneo, em tempo real, nos diferentes sítios no sistema cardiovascular (Graziozi, 1998), porém apresentam limitações, pois os resultados são obtidos por estimativas e através de análise bidimensional.

Os métodos invasivos, apesar dos riscos da técnica, oferecem poderosas ferramentas no manejo das cardiopatias, pois consistem em assumir o índice fiel da pré-carga (volume). Isso permite a obtenção de dados mais sofisticados referentes ao trabalho cardíaco externo, à complacência e à rigidez ventricular.

O registro simultâneo da pressão e do volume possibilita compreender a energética ventricular, sendo que a área contida dentro da curva pressão-volume refere-se ao trabalho cardíaco externo. É possível também obter o cálculo da complacência ventricular como uma taxa de alteração do volume por uma taxa de alteração da pressão, ou seja, a dV/dP . A recíproca desse valor, a dP/dV , denominada rigidez da câmara, é habitualmente derivada pela obtenção da pressão em diferentes condições de volume no final da diástole (Weiss et al., 1976; Graziozi, 1998).

Entre os métodos invasivos de obtenção do volume cardíaco podemos citar o cateter de condutância, considerado padrão-ouro na avaliação da função cardíaca. Este método consiste em introduzir na cavidade cardíaca um cateter com eletrodos que ficam uniformemente dispostos ao longo do seu eixo longitudinal, onde circulam através dos eletrodos extremos uma baixa corrente. Medindo as tensões geradas nos diversos eletrodos, pode-se estimar a condutância de cada segmento, de forma que quando o volume da cavidade aumenta, a área pela qual a corrente flui se torna maior, aumentando também a condutância, e deste modo é possível obter o volume instantâneo da cavidade (Chen et al., 1997).

1. Disfunção sistólica

O desempenho sistólico é refletido na capacidade de esvaziamento dos ventrículos e tem como determinante principal a contratilidade miocárdica, porém, também é influenciado pela carga e pela configuração ventricular. Assim, é possível ter desempenho sistólico anormal apesar da contratilidade normal, quando há uma pós-carga excessiva (Brawnwald, 2003).

A função sistólica é quantificada principalmente pela fração de ejeção efetiva, que representa o volume sistólico final dividido pelo volume diastólico final, e dessa forma, a disfunção sistólica pode ser definida quando a fração de ejeção efetiva é inferior a 50%. Segundo essa definição, isso significa que a disfunção sistólica é resultante de função miocárdica diminuída, de pós-carga aumentada e/ou de anormalidades estruturais do coração (Brawnwald, 2003).

A energética do ventrículo esquerdo também pode ser quantificada através do plote pressão-volume, sendo que a área contida no mesmo reflete o trabalho sistólico e indica a eficiência contrátil. Vale ressaltar que o consumo de oxigênio no miocárdio é relacionado de um modo linear ao trabalho sistólico (Brawnwald, 2003).

1.1. Hipertrofia cardíaca vs disfunção sistólica

A hipertrofia do miocárdio ocorre em muitas doenças que acometem o coração e é considerada um fenômeno adaptativo a sobrecargas hemodinâmicas. Definida nesse contexto, a hipertrofia miocárdica se caracteriza por aumento das dimensões dos miócitos cardíacos acompanhada por acúmulo de colágeno, que resulta da ativação da síntese protéica (Franchini, 2002). Deve-se salientar que tal definição de hipertrofia não abrange todos os seus aspectos característicos, uma vez que diferentes condições fisiopatológicas acompanham-se de hipertrofias com peculiaridades geométricas das câmaras (p.ex.: hipertrofia concêntrica e excêntrica), do miocárdio (fibrose perivascular e intersticial), celulares (necrose, apoptose, degeneração), ultra-estruturais e bioquímicas que afetam os diferentes tipos celulares do miocárdio dependendo do tipo, duração e intensidade da sobrecarga hemodinâmica, presença ou não de insuficiência cardíaca, ativação de mecanismos neuro-humorais e fatores genéticos (Weber & Brilla, 1991).

Dentre as alterações funcionais causadas pela hipertrofia ventricular destacam-se:

a) Aumento da capacidade de trabalho ventricular. Este se deve, em parte, ao aumento da massa ventricular;

b) Normalização do estresse de parede, uma vez que este é diretamente proporcional ao raio da cavidade e inversamente proporcional a espessura da parede ventricular elevada ao quadrado. Dessa forma, temos que na hipertrofia cardíaca concêntrica ocorre uma diminuição do raio da cavidade e aumento da espessura de parede ventricular alterando este estresse de forma adaptativa (Mill & Vassallo, 2001).

c) Diminuição da complacência ventricular. Pelos mecanismos citados anteriormente que dizem respeito ao aumento de massa dos miócitos e aumento da deposição e organização das fibras colágenas, principalmente e, além disso, por diminuição na captação de cálcio pelo retículo sarcoplasmático;

d) Indução à insuficiência coronária. Quando o aumento na irrigação miocárdica não consegue ser na mesma proporção do aumento de massa;

e) Diminuição da contratilidade. Isso é evidenciado devido à relação massa/volume, de forma que para uma mesma força gerada durante a contração, a pressão desenvolvida no interior da cavidade será tanto maior quanto maior for essa relação. No músculo hipertrofiado, ele gera força à custa de aumento de massa (Hamrell & Alpert, 1986; Katz, 1991; Ferreira *et al.*, 1993; Kioshi *et al.*, 1994).

Uma das causas de hipertrofia ventricular esquerda é a hipertensão arterial e, segundo a lei de Laplace, o aumento da pressão intraventricular aumenta a tensão sistólica de parede promovendo um maior consumo miocárdico de oxigênio. O desenvolvimento da hipertrofia concêntrica tende a normalizar a tensão sistólica e mantém o consumo de oxigênio miocárdico dentro de limites fisiológicos. Dessa forma, a função sistólica é preservada (Grossman e cols, 1975).

A adequação da função sistólica sofre a influência de fatores diversos, porém quando a hipertrofia é incapaz de normalizar a sobrecarga hemodinâmica ocorre elevação do gasto energético com perda da viabilidade das fibras musculares cardíacas. O resultado final culmina com a substituição dessas fibras por fibrose e perda progressiva da função contrátil (Grossman, 1980).

2. Disfunção diastólica

Na análise da função diastólica do ventrículo esquerdo deve-se considerar que existe uma inter-relação muito estreita entre a função sistólica e a função diastólica, mesmo porque para sua atuação como função de bomba, o ventrículo esquerdo necessita de um enchimento adequado. Diversos estados patológicos podem interferir de alguma forma na função diastólica, que pode se apresentar alterada precedendo ou acompanhando a disfunção sistólica, ou até levar à franca manifestação clínica de insuficiência cardíaca mesmo na presença de função sistólica preservada (Brogan *et al.*, 1992).

As causas de Insuficiência cardíaca diastólica podem ser:

- Miocárdicas:
 - Isquemia microvascular;
 - Cardiomiopatias;
 - Envelhecimento;
 - Hipotireoidismo;
 - Hipertrofia miocárdica;
 - Fibrose difusa
 - Cicatriz pós-infarto
 - Amiloidose
- Endocárdicas:
 - Fibroelastose
 - Estenose mitral ou tricúspide
- Epicárdicas:
 - Constrição epicardica
 - Tamponamento epicárdico
- Microcirculação coronária
 - Compressão capilar
 - Engurgitamento venoso
- Outras
 - Sobrecarga de volume do ventrículo contra-lateral
 - Compressão extrínseca por tumor (Angeja & Grossman, 2003).

Nos últimos anos, abordou-se com muito mais ênfase o diagnóstico, a avaliação e o tratamento da disfunção diastólica, dada a constatação de sua importância clínica.

2.1. Hipertrofia cardíaca vs disfunção diastólica

Durante muito tempo, os pesquisadores concluíram que a contração sistólica da bomba cardíaca era uma atividade vital para a manutenção da perfusão dos tecidos, mas foi só recentemente que o enchimento dos ventrículos e sua distensibilidade passaram a ser considerados, também, como funções importantes para a homeostase e a vida. Assim, começaram a ser valorizados os conceitos de relaxamento, complacência ventricular, rigidez miocárdica e recuo elástico.

A diástole é classicamente conceituada o período no qual o coração perde sua capacidade de gerar força e encurtamento retornando ao seu comprimento de repouso e permitindo o enchimento ventricular. E pela definição, a disfunção diastólica ocorre quando este processo se torna lento, prolongado ou incompleto (Leite-Moreira, 2006; Osadchii, 2007). Os mecanismos que permitem o enchimento ventricular envolvem a ação do miocárdio contrátil, provocando uma sucção ativa do sangue para dentro das cavidades (Torrent-Guasp, 2001; Buckberg *et al.*, 2006), ao contrário do que classicamente é descrito, porém o fato deste processo se tornar mais lento ou incompleto, por definição, caracteriza-se da mesma maneira como disfunção diastólica.

Os principais determinantes intrínsecos da disfunção diastólica são as propriedades passivas da parede ventricular, a espessura da parede e a geometria das câmaras (Gaash & Zile, 2004). Sendo que as propriedades passivas são inteiramente influenciadas pela espessura e geometria das câmaras. O citoesqueleto e a matriz extracelular são os principais determinantes da espessura miocárdica. Os principais componentes da matriz extracelular são as fibras colágenas tipo I e tipo II, a elastina, e as proteoglicanas, sendo as fibras colágenas os componentes que mais contribuem para o aparecimento de disfunção diastólica, quando se encontram alterados quanto a sua síntese/degradação, disposição, organização e tipo de suas fibras (Zile & Brutsaert, 2002; Kass *et al.*, 2004; Leite-Moreira, 2006).

A hipertrofia de miócitos é uma resposta não específica à sobrecarga de volume ou pressão dos ventrículos. A sobrecarga de pressão tem a característica de

aumentar a espessura da parede, porém o raio da câmara permanece constante ou até diminui (hipertrofia concêntrica), devido ao aumento do diâmetro transversal dos miócitos. Por outro lado, a hipertrofia por sobrecarga de volume progride com um crescimento proporcional nas dimensões transversal e longitudinal dos miócitos, levando a dilatação das câmaras (hipertrofia excêntrica). A espessura da parede não está necessariamente aumentada, podendo ser normal ou diminuída (Mill & Vassallo, 2001; Leite-Moreira, 2006).

Elevações do “stress” de parede miocárdico, como ocorre nos ratos espontaneamente hipertensos levam ao remodelamento estrutural do coração como compensação à carga imposta e envolve desenvolvimento de hipertrofia dos miócitos. Estas alterações são mais importantes quanto mais avançada a idade desses animais, e não se devem exclusivamente aos fatores hemodinâmicos, principalmente no que diz respeito ao ventrículo direito, onde não há sobrecarga hemodinâmica, sugerindo outros fatores envolvidos no remodelamento, como liberação de agonista α_1 e β -adrenérgicos, hormônios da tireóide e também liberação de angiotensina II (Engelmann, 1987; Souza, 2002).

Este remodelamento, entretanto, não depende apenas do aumento de massa dos miócitos, pois vem associado a alterações na estrutura e composição bioquímica da matriz extracelular, cujo principal componente é o colágeno. Uma vez que as fibras colágenas são materiais relativamente rígidos, um aumento na quantidade e/ou alteração na organização das fibras de colágeno resulta em rigidez ventricular (Brower, *et al.*, 2006).

Assim como o tratamento crônico com β -agonistas, como o isoproterenol, promove aumento da síntese protéica miocárdica estimulada via fatores de crescimento celulares, “up-regulation” de proto-oncogenes nucleares e indução de stress oxidativo cardíaco (Osadchii, 2007). Essas mudanças são acompanhadas por múltiplos focos de necrose (Chappel *et al.*, 1951; Bloom & Cancilla, 1969; Collins *et al.*, 1975; Benjamin *et al.*, 1989; Zhang *et al.*, 2005), bem como fibrose miocárdica intersticial devido a estimulação da síntese e deposição de colágeno (Golomb *et al.*, 1994; Boluyt *et al.*, 1995; Masson *et al.*, 1998; Brouiri *et al.*, 2002). O colágeno muda tanto qualitativamente quanto quantitativamente. Essas mudanças refletem-se na diminuição da solubilidade e na alteração de várias propriedades físicas da molécula. Há um acúmulo no número de ligações covalentes cruzadas entre as cadeias α das moléculas de colágeno e as moléculas de colágeno das

fibrilas, o que causa um aumento na rigidez miocárdica, perda da elasticidade do tecido conjuntivo e diminuição da complacência ventricular (Osadchii, 2007).

A complacência ventricular pode ser quantificada por meio da relação pressão-volume obtida no final da diástole, quantificando-se a pressão e o volume diastólicos em diferentes graus de enchimento ventricular. Dessa forma, ela corresponde à variação de volume necessária para causar uma dada variação de pressão. Na hipertrofia miocárdica concêntrica, a relação pressão-volume está desviada para cima e para a esquerda, caracterizando baixa complacência. Como consequência, pequenas variações de volume acompanham-se de grandes variações de pressão (Hoit, 2007).

Enquanto a complacência ventricular refere-se à distensibilidade da câmara, a rigidez passiva do miocárdio refere-se à elasticidade do músculo. A descrição quantitativa da rigidez passiva do miocárdio é feita por meio da relação estresse-deformação, obtida no final da diástole. O músculo de rigidez aumentada necessita de grande força para ser distendido. A força de distensão é representada pelo estresse diastólico final atuando na parede do ventrículo, isto é, a pré-carga. O estresse diastólico final é diretamente proporcional ao volume e a pressão do ventrículo e é inversamente proporcional a espessura da parede. Esse parâmetro é expresso em gramas/cm². A deformação é a porcentagem de variação do comprimento do músculo frente a uma dada variação de estresse. Uma vez que o músculo é um material elástico, a deformação não é definitiva, isto é, cessada a força de distensão, o miocárdio volta à forma e ao comprimento de repouso, quando o estresse é zero. Esse comportamento se mantém estável enquanto a estrutura do tecido não for modificada e assegura a manutenção da forma ventricular (Murad & Tucci, 2000; Hoit, 2007)

A rigidez passiva do miocárdio é tanto maior quanto maior for a pré-carga necessária para distendê-lo até o comprimento diastólico final. Assim, ela depende da composição estrutural do miocárdio e do grau de ligação entre as proteínas contráteis do sarcômero (Hoit, 2007).

. Embora o miocárdio mais rígido torne a câmara menos complacente, o inverso nem sempre é verdadeiro. Por exemplo, a câmara ventricular de volume normal e parede espessada, com relação volume/massa diminuída, tem complacência reduzida, ainda que a rigidez passiva do miocárdio seja normal. Assim, a disfunção diastólica não significa, necessariamente, alteração do

comportamento elástico do miocárdio, embora essa seja a condição mais comum, como é o caso da hipertrofia ventricular esquerda.

A diástole ventricular, portanto, é uma fase do ciclo cardíaco em que os eventos se sucedem de forma menos explícita do que na sístole. O reconhecimento das diversas fases da diástole tornou possível a compreensão dos processos fisiológicos e patológicos relacionados com o enchimento ventricular. Cada uma dessas fases tem sido estudada, separadamente e em conjunto, através de índices quantitativos, que buscam avaliar a normalidade ou a anormalidade da diástole ventricular. Um grande número de publicações inundou, nos últimos anos, a literatura científica, tratando dos fenômenos relacionados com a diástole dos ventrículos, e com o que passou a ser chamado de "função diastólica" e até de "diastologia".

3. Plano de Fase (PF)

Diversos estudos têm sido realizados no sentido de estabelecer parâmetros úteis para o diagnóstico de disfunções mecânicas. Vassallo & Paes de Carvalho (1979), apresentaram um modelo de determinação de propriedades mecânicas do miocárdio através do PF.

O PF é um gráfico com trajetória fechada que plota uma função nas abcissas e sua derivada de tempo nas ordenadas (Vassallo & Paes de Carvalho, 1979; Eucker, AS *et al*, 2001). Considerando que o coração se comporta como um oscilador mecânico, a pressão ventricular completa uma oscilação a cada ciclo cardíaco e o PF se forma por uma trajetória fechada. Na análise experimental isovolumétrica, o PF plota a pressão isovolumétrica (PIV) nas abcissas e sua primeira derivada temporal (dP/dt) nas ordenadas. A figura 2 mostra a construção do PF obtido via cateterismo, tendo como variável a pressão intraventricular esquerda.

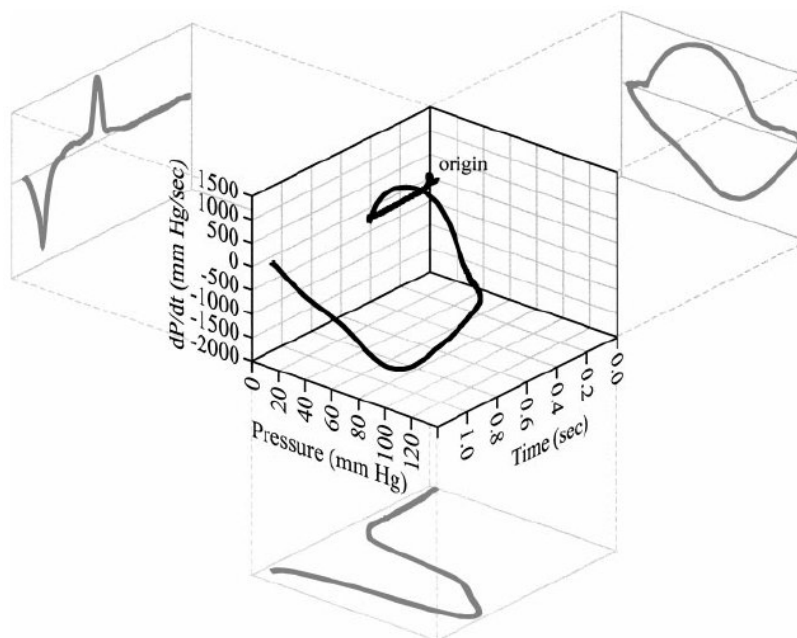


Figura 1: Contorno tridimensional do tempo (eixo-X) vs pressão intraventricular esquerda (eixo-Y) vs dP/dt (eixo-Z) para a construção do plano de fase através da projeção (dP/dt vs P). Fonte: Eucker et al, 2001.

Esta é uma forma de representação simultânea de duas funções bastante instrutiva, pois, além de extrair as informações existentes na curva de pressão original, é possível reconhecer e quantificar outros fenômenos fisiológicos que enriquecem a análise da função ventricular de uma maneira simples e inteligente, através do seu formato.

A primeira informação extraída do PF por Vassallo & Paes de Carvalho (1979) foi a inclinação do segmento de reta que se forma ao final do relaxamento isovolumétrico, a qual representa a constante de tempo do relaxamento isovolumétrico. Mais tarde, um grupo americano também começou a explorar as propriedades do PF na análise de pacientes submetidos à cateterização do VE correlacionando a área do plano de fase (APF) com a fração de ejeção, bem como mostrando a dependência da carga nos valores de dP/dt mínima e máxima e em suas respectivas pressões durante esses momentos.

A constante de tempo do relaxamento isovolumétrico é um dos índices de avaliação da queda de pressão isovolumétrica (Weiss & Weisfeldt, 1976) representado em ms e foi modelado por uma função monoexponencial, como mostra a equação 1.

$$P(t) = P_{\infty} + P_0 e^{-t/\tau}, \quad (1)$$

onde $P(t)$ é a pressão do VE em função do tempo (em mmHg), t é tempo (em ms), P_{∞} é a assíntota que tende a pressão a zero e P_0 é a pressão no momento do pico negativo da dP/dt .

Quando ocorre um aumento de τ , sugere-se então que as propriedades passivas do músculo estão alteradas e são capazes de prolongar o tempo de queda de pressão (Weiss & Weisfeldt, 1976; Vassallo & Paes de Carvalho, 1979; Gaash *et al*, 1980).

A análise da pressão ventricular esquerda pelo PF facilita enormemente o cálculo de τ , uma vez que a derivada temporal da pressão se relaciona linearmente com a pressão, e desta maneira:

$$dP/dt = -1/\tau \times P(t) + P_{\infty}/\tau \quad (2)$$

A equação 2, quando escrita na forma $dP/dt = mP + b$, diz que a inclinação m é $-1/\tau$ e a interseção com o eixo Y b é P_{∞}/τ . Isso mostra que τ é a recíproca negativa da inclinação na porção linear apresentada no PF ao final do relaxamento, como mostra a figura 3.

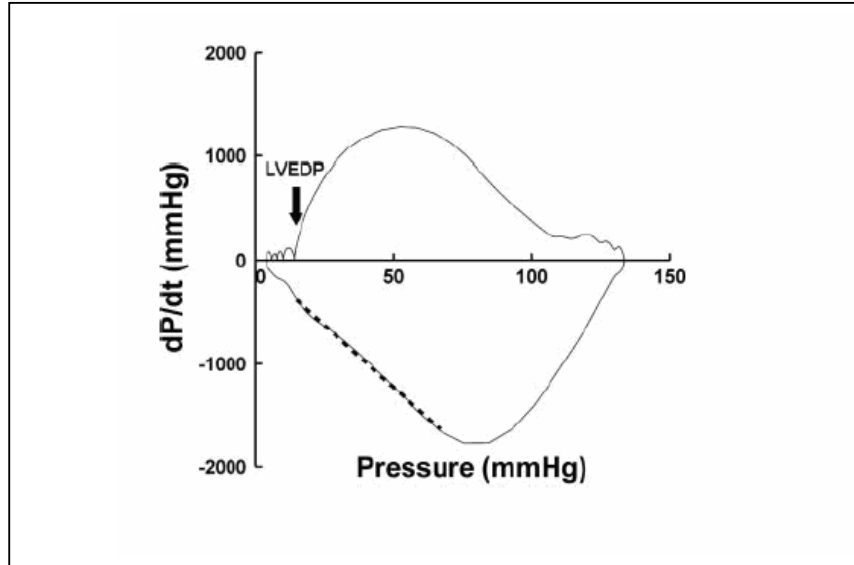


Figura 2: Plano de Fase de um ciclo cardíaco obtido em humano via cateterismo. A porção terminal da queda de pressão isovolumétrica determina a constante de tempo (τ) pela regressão linear (inclinação = $-1/\tau$). A linha pontilhada mostra o melhor ajuste da regressão. (Fonte: Chung et al., 2005).

Segundo um modelo matemático ideal de aproximação da curva de pressão isovolumétrica, tem-se que $APF = P \times dP/dt$, onde APF é a área do plano de fase, P é a pressão isovolumétrica e dP/dt é a primeira derivada da pressão isovolumétrica. Sabendo-se que o trabalho sistólico (T_{sist}) é o produto da pressão pela variação de volume, a equação pode ser reescrita da seguinte maneira:

$$T_{ext} = P \cdot \frac{dV}{dP} \cdot \frac{dP}{dt} \quad (3)$$

Uma vez que neste modelo experimental o volume é constante, temos que a APF é proporcional ao T_{sist} .

A obtenção de informações precisas e sofisticadas no estudo e na avaliação das disfunções mecânicas cardíacas, nos dias atuais, requer métodos e equipamentos de alto custo, como é o caso do cateterismo de condutância, considerado padrão-ouro na quantificação e qualificação hemodinâmica. A análise da pressão ventricular através do PF mostra ser uma solução com melhor custo-benefício, uma vez que provê informações sobre a mecânica cardíaca, incluindo a energética do coração, com a vantagem de se trabalhar apenas com os níveis pressóricos.

OBJETIVOS

Objetivos

Objetivo geral

Avaliar, através do plano de fase, a função cardíaca, bem como as propriedades mecânicas do coração.

Objetivos específicos

2.2.1. Comparação da inclinação e da área do plano de fase entre o modelo de hipertrofia induzida por isoproterenol, ratos espontaneamente hipertensos e ratos Wistar controle.

2.2.2. Correlacionar a inclinação da porção final do plano de fase com ações inotrópicas.

2.2.3. Correlacionar a área do plano de fase com os parâmetros que refletem os efeitos inotrópicos induzidos, especificamente o trabalho sistólico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais e Métodos

1. Animais

Foram utilizados ratos machos Wistar e ratos espontaneamente hipertensos (SHR) pesando entre 200 e 250g fornecidos pelo biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo. Os animais foram mantidos em gaiolas sob condições controle de temperatura e um ciclo claro-escuro de 12 horas e receberam água e ração “*ad libitum*”. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em experimentação e uso de animais (COBEA) – EMESCAM.

2. Grupos Experimentais

Grupo Controle: Ratos Wistar controle.

Grupo SHR: Ratos espontaneamente hipertensos.

Grupo ISO: Ratos tratados com Isoproterenol

Grupo Veículo: Ratos tratados apenas com veículo.

2.1. Obtenção dos grupos experimentais

2.1.1. Grupo Controle

Foram utilizados como controle, ratos machos Wistar pesando entre 200 e 250g (n=7).

2.1.2. Grupo SHR

Foram utilizados ratos espontaneamente hipertensos pesando aproximadamente 250g (n=7).

2.1.3. Grupo ISO

Para a realização deste modelo, ratos Wistar pesando entre 200 e 220g receberam tratamento por 7 dias com isoproterenol (Levógero 0,3 mg/kg/dia) suspenso em óleo de soja em injeções subcutâneas, cujo volume foi de 0,1mL (n=9).

2.1.4. Grupo Veículo

Os animais receberam injeções subcutâneas contendo somente o veículo de diluição em volume idêntico ao aplicado nos animais do grupo ISO (n=6).

3. Preparação do coração isolado

Os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de pentobarbital sódico (35 mg/Kg) e 20 minutos antes de serem sacrificados receberam injeção intraperitoneal de heparina sódica (40 U). Imediatamente após, o tórax foi aberto e o coração exposto. As artérias derivadas do arco aórtico foram amarradas com fio de algodão, deixando-se livre a aorta. O coração foi removido e conectado ao sistema de perfusão retrógrada via coto aórtico, pela técnica de Langendorff, com fluxo constante de 10 mL/min com solução de Krebs, tampão bicarbonato, aerada com 95% O₂ e 5% CO₂, pH 7.4 a 31 °C. O átrio direito foi retirado, visando a remoção do nódulo sinoatrial e a frequência de estimulação foi fixada em 200 bpm, através da colocação de dois eletrodos (Ag/AgCl) colocados em contato com o meio de perfusão que envolveu o coração. Foram usados pulsos de onda quadrada, intensidade de 10 V e duração de 3 a 7 ms. Um transdutor de pressão conectado a um balão de látex inflável com água inserido no ventrículo esquerdo foi usado para acessar a função ventricular pela medida da pressão isovolumétrica intraventricular esquerda (mmHg) e sua primeira derivada (dP/dt). A pressão diastólica final do ventrículo esquerdo foi fixada em 10mmHg. Após a montagem da preparação e colocação do balão intraventricular, o protocolo se iniciou após 20 minutos de estabilização.

4. Drogas e soluções utilizadas

- Krebs (em mM): NaCl=120, KCl=5.4, MgCl₂=1.2, CaCl₂=1.25, NaH₂PO₄=2, Na₂SO₄=1.2, NaHCO₃=18, glicose=11.
- Cálcio: 0.5/ 1.25/ 2.5 mM (Merk).
- Isoproterenol: (Levógero).

5. Medidas Realizadas

As pressões diastólica (PD) e sistólica isovolumétrica (PSI) foram medidas através de um transdutor de pressão (TSD 104A- Biopac) conectado ao pré-amplificador Funbec MP-100, o qual se conecta a um sistema de aquisição de dados (MP 100 Biopac Systems: Inc; CA) e registradas em computador pelo *software* Biopac Student Lab.

A dP/dt foi obtida offline pelo mesmo *software* (filtro digital Blackman -61dB com frequência de corte de 25 KHz e taxa de amostragem de 1000/s).

6. Protocolo experimental

Em todos os grupos foram realizadas as seguintes intervenções na ordem apresentada:

- 1) Curva de função ventricular: a PD sofreu incrementos de 5 em 5 mmHg de 0 até 30 mmHg através da inflação do balão intraventricular com água.
- 2) Curva de frequência: aumento da frequência de estimulação de 200 para 450 bpm com incrementos de 50 bpm.
- 3) Resposta inotrópica ao cálcio extracelular: aumento da concentração de Ca^{+2} de 0,5 mM para 1,25 e depois para 2,5 mM.
- 4) Resposta β -adrenérgica: injeção *in bolus* de isoproterenol (0,1 mL; 10^{-5} M) durante perfusão de solução de Krebs com 0,5 mM de Ca^{+2} .

A figura 4 mostra um registro típico do experimento realizado.

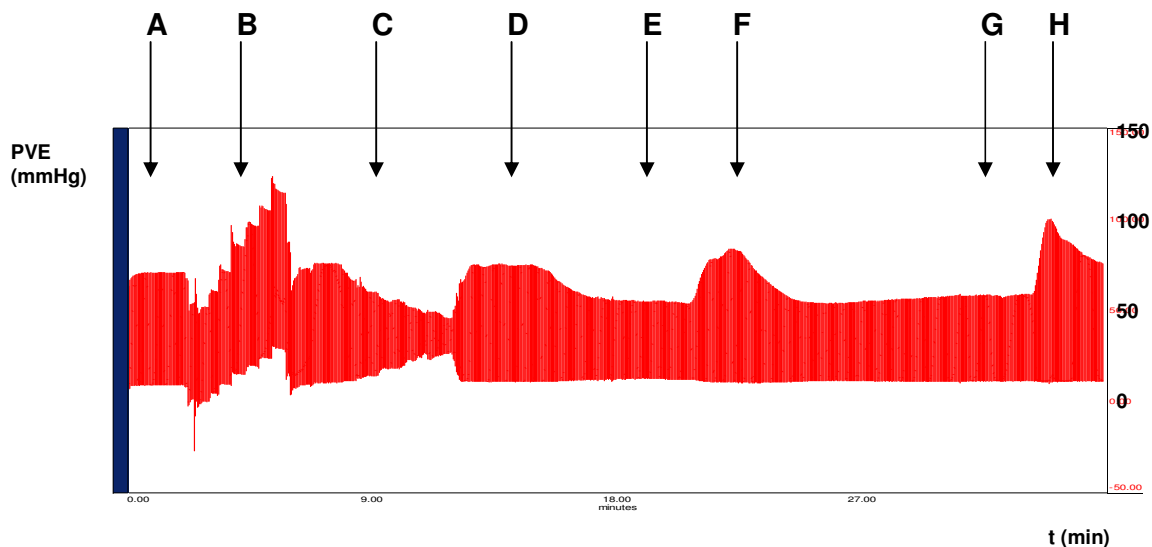


Figura 3: Registro típico. (A) estabilização, (B) curva de função ventricular, (C) curva de frequência, (D) $[Ca^{2+}]_i = 1,25$ mM, (E) $[Ca^{2+}]_i = 0,62$ mM, (F) $[Ca^{2+}]_i = 2,50$ mM, (G) medida basal antes da aplicação de isoproterenol, (H) resposta β -adrenérgica.

7. Análises Ponderais

As análises ponderais constaram de peso corporal (PC), peso dos ventrículos direito e esquerdo, as relações destes com o PC (PVD, PVE, PVD/PC e PVE/PC, respectivamente), os pesos de pulmão seco, úmido (PP úmido e PP seco) e a relação PP pelo PC (PP/PC). Todas essas avaliações foram realizadas em balança analítica (Shimadzu AY 220) e para obtenção de peso seco, os pulmões permaneceram 24h em estufa a 100 °C.

8. Construção e análise do Plano de Fase

A obtenção do Plano de Fase, através do plote $dP/dt \times P$, foi realizada pelo *software* Biopac Student Lab, sendo mantida a escala de 50 mmHg e 500 mmHg/s nos eixos da P e dP/dt , respectivamente, para todas as medidas.

As medidas da inclinação final (θ) e da área do plano de fase (APF) foram feitas através do *software* AutoCad 2004.

9. Análise estatística

Os dados foram representados como média \pm epm e considerados estatisticamente significante aqueles com $p < 0,05$. A avaliação foi feita por ANOVA 1

ou 2 vias randomizada e/ou não-randomizada seguidas por *post hoc* de Fisher, e Teste *t* de Student pareado e não pareado.

Também foi realizada correlação linear simples representada pelo coeficiente de correlação de Spearman seguida de teste *t*, sendo considerada correlação significativa aquela com $p < 0,05$.

RESULTADOS

Resultados

1. Dados Ponderais

A tabela 1 apresenta os valores de peso corporal (PC), peso dos ventrículos direito e esquerdo, as relações destes com o PC (PVD, PVE, PVD/PC e PVE/PC, respectivamente), os pesos de pulmão seco, úmido (PP úmido e PP seco) e a relação PP pelo PC (PP/PC). Como esperado, a relação PVE/PC foi maior no grupo SHR. Os animais do grupo ISO também tiveram um aumento no PVE, em relação ao grupo Veículo, porém a relação PVE/PC não teve um aumento significativo. O grupo SHR também apresentou um aumento nos valores de PP úmido e seco, assim como na relação PP/PC.

Quanto ao PVD, não houve diferença significativa entre os grupos, bem como na relação PVD/PC.

Tabela 1. Dados ponderais dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.

	Controle (n=7)	SHR (n=7)	Veículo (n=6)	ISO (n=9)
PC (g)	236±5	249±5	255±8	262±18
PVD (mg)	183±10	197±8	194±10	201±8
PVE (mg)	594±34	740±18 ^a	646±29 ^{a b}	688±20 ^{a b c}
PVD/PC (mg/g)	0,759±0,029	0,792±0,031	0,762±0,037	0,774±0,041
PVE/PC (mg/g)	2,472±0,1	2,976±0,056 ^a	2,534±0,092 ^b	2,656±0,122 ^b
PP úmido (mg)	1330±173	1870±117 ^a	1472±92 ^b	1607±80 ^{a b}
PP seco (mg)	236±27	317±16 ^a	239±13 ^b	294±25 ^{a c}
PP/PC (mg/g)	5,505±0,613	7,517±0,467 ^a	5,752±0,328 ^b	6,152±0,291 ^{a b}

Os dados são expressos em média± EPM. PC = peso corporal; PVD = peso de ventrículo direito; PVE = peso de ventrículo esquerdo; PVD/PC = peso de ventrículo direito pelo peso corporal; PVE/PC = peso de ventrículo direito pelo peso corporal; PP = peso de pulmão; PP/PC = peso de pulmão pelo peso corporal. ^a p<0,05 vs Controle, ^b p<0,05 vs SHR, ^c p< 0,05 vs Veículo. ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher.

2. Análise do PF no estado basal

As inclinações e áreas do PF obtidas após a estabilização das preparações com PD de 10mmHg estão representadas nas figuras 5 e 6, respectivamente. As inclinações foram maiores nos grupos que apresentaram hipertrofia (grupos SHR e ISO) comparadas aos grupos controle e veículo. Com relação à APF, o grupo SHR teve um aumento significativo de área comparados ao controle. O grupo Veículo apresentou uma área semelhante ao grupo ISO.

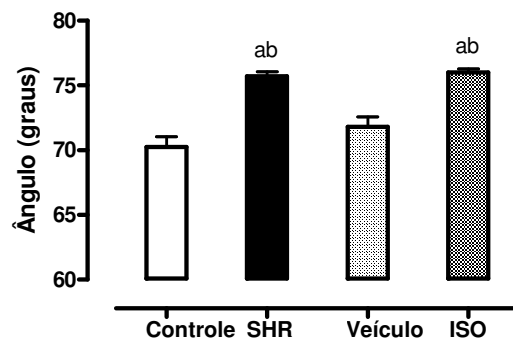


Figura 4: Comparação entre os grupos da Inclinação final do plano de fase (t-1: índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) obtida após estabilização da preparação com PD de 10mmHg. Os dados são expressos em média \pm EPM. ^ap<0,05 vs controle, ^bp<0,05 vs veículo. ANOVA 1-via, post hoc Fisher.

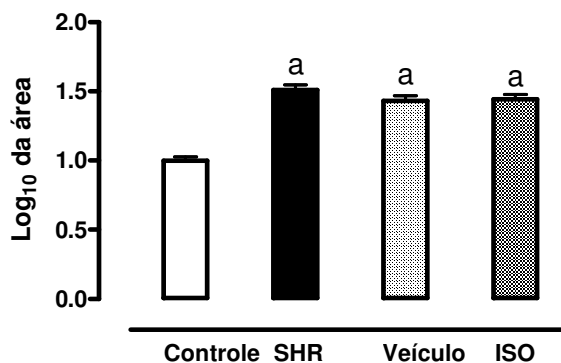


Figura 5: Comparação entre os grupos do log₁₀ da área do plano de fase ($\sum dP/dt \times P$) obtida após estabilização da preparação com PD de 10mmHg. Os dados são expressos em média \pm EPM. ^ap<0,05 vs controle. ANOVA 1-via, post hoc Fisher.

3. Regulação Heterométrica

3.1 Curva de função ventricular

3.1.1. Análise da Pressão Sistólica Isovolumétrica

A tabela 2 apresenta as mudanças nos valores absolutos da PSI em função da elevação da PD para os grupos Controle, SHR, Veículo e ISO. O grupo SHR teve seus valores aumentados em todas as PDs, em relação ao seu controle, enquanto os grupos ISO e Veículo não diferiram. Outro dado foi que a PSI do grupo veículo foi maior que a do grupo controle, provavelmente devido ao fato da diferença de peso e idade, influenciando na performance cardíaca.

A figura 7 mostra um registro típico da curva de função ventricular. Para melhor ilustrar a comparação da PSI entre grupos, a figura 8 mostra o comportamento das curvas de função ventricular que apresentaram os quatro grupos.

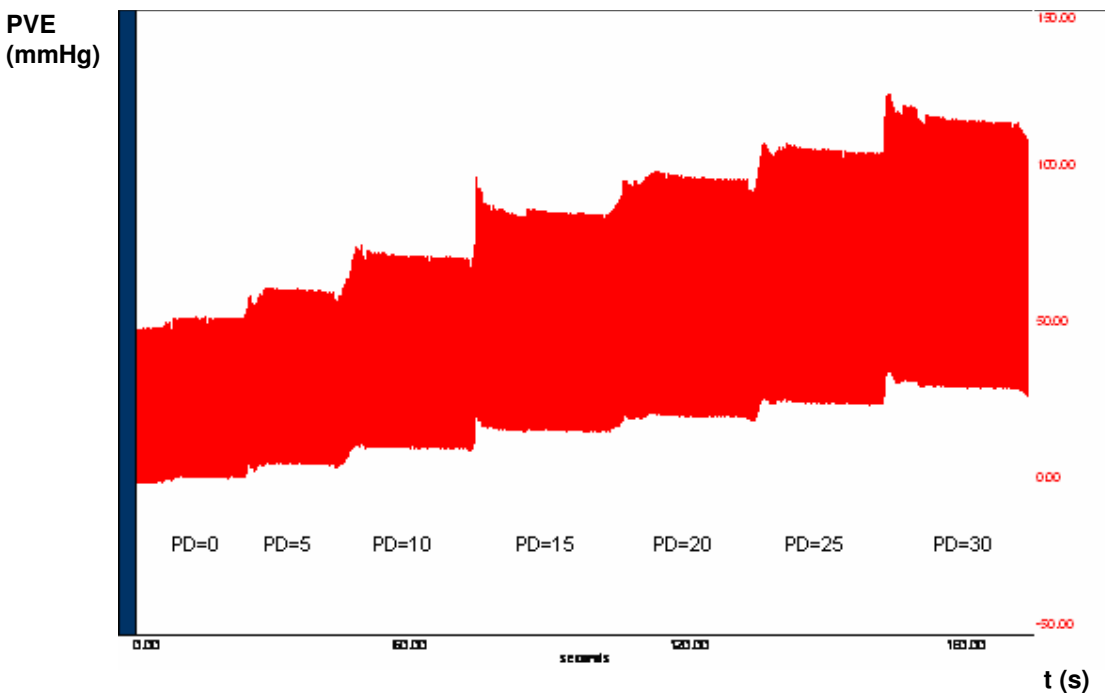


Figura 6: Registro típico da curva de função ventricular.

Tabela 2. Pressão Sistólica Isovolumétrica (PSI) obtida pela curva de função ventricular dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.

PSI (mmHg)				
PD (mmHg)	Controle (n=7)	SHR (n=7)	Veículo (n=6)	ISO (n=9)
0	68±6	92±10 ^a	89±5	96±7
5	76±6	102±10 ^a	94±6	104±7
10	87±6	112±11 ^a	104±6	113±7
15	90±7	124±11 ^a	113±7	120±8
20	100±7	143±11 ^a	120±8	125±8
25	106±7	149±11 ^a	131±7	134±8
30	113±7	154±11 ^a	136±8	139±8

Os dados são expressos em média± EPM. ^a p<0,05 vs Controle, ^b p<0,05 vs Veículo. ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher.

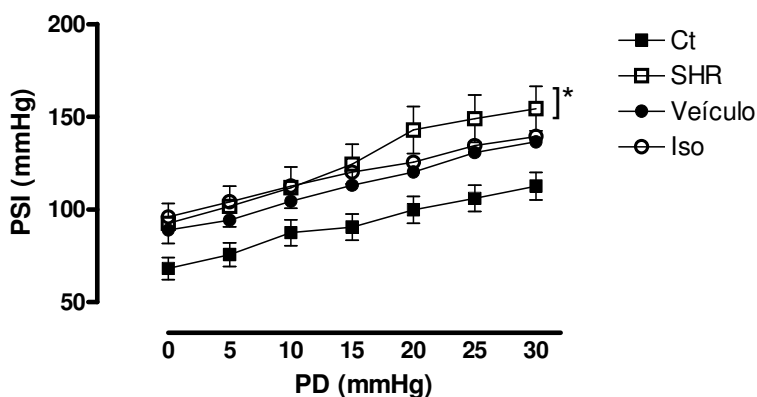


Figura 7. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) das PSI durante a curva de função ventricular. Os dados são expressos em média ± EPM. *p<0,05 vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

3.1.2. Análise da $dP/dt_{\text{máx}}$

Avaliando a $dP/dt_{\text{máx}}$ em função dos incrementos de PD, observou-se que o grupo SHR teve valores significativamente maiores que o grupo Controle em todas as PDs. Porém, na comparação entre os grupos ISO e Veículo não houve diferença neste parâmetro, como mostra a tabela 3 e a figura 9.

Tabela 3. Valores absolutos da $dP/dt_{\text{máx}}$ obtida pela curva de função ventricular dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.

$dP/dt_{\text{máx}}$ (mmHg/s)				
PD (mmHg)	Controle (n=7)	SHR (n=7)	Veículo (n=6)	ISO (n=9)
0	1281±153	1953±232 ^a	1639±113	1690±116
5	1325±164	2002±227 ^a	1626±125	1685±110
10	1382±169	2031±254 ^a	1662±132	1714±110
15	1445±169	2131±250 ^a	1714±144	1746±112
20	1493±194	2355±270 ^a	1767±152	1766±120
25	1510±204	2354±241 ^a	1801±143	1792±127
30	1546±211	2335±251 ^a	1776±157	1785±125

Os dados são expressos em média ± EPM. ^a p<0,05 vs Controle, ^b p<0,05 vs Veículo. ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher.

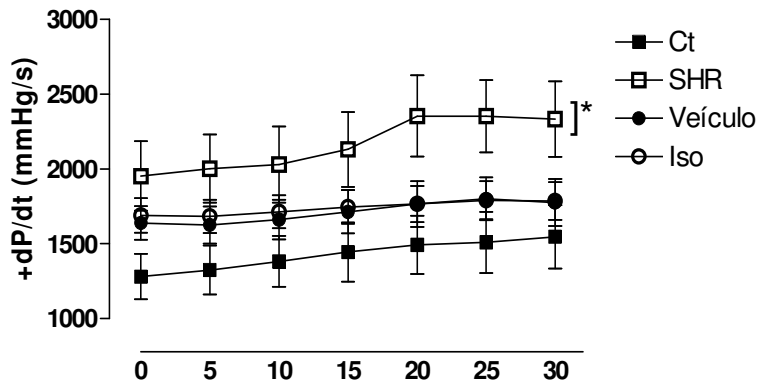


Figura 8. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da +dP/dt durante a curva de função ventricular. Os dados são expressos em média ± EPM. *p<0,05 vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

3.1.3. Análise da dP/dt_{\min}

O comportamento da dP/dt_{\min} durante a curva de função ventricular foi semelhante ao anterior, sendo os valores obtidos no grupo SHR significativamente maiores que no grupo Controle (Tabela 4 e Figura 10).

Tabela 4. Valores absolutos da dP/dt_{\min} obtida pela curva de função ventricular dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.

dP/dt_{\min} (mmHg/s)				
PD (mmHg)	Controle (n=7)	SHR (n=7)	Veículo (n=6)	ISO (n=9)
0	832±130	1618±199 ^a	1425±47	1395±136
5	863±131	1720±193 ^a	1506±53	1487±180
10	917±148	1831±185 ^a	1622±67	1555±183
15	960±162	1982±181 ^a	1725±76	1596±183
20	1008±168	2262±209 ^a	1805±82	1627±169
25	1027±182	2322±202 ^a	1956±89	1708±177
30	1068±196	2358±193 ^a	1968±87	1697±174

Os dados são expressos em média ± EPM. ^a $p < 0,05$ vs Controle, ^b $p < 0,05$ vs Veículo. ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher.

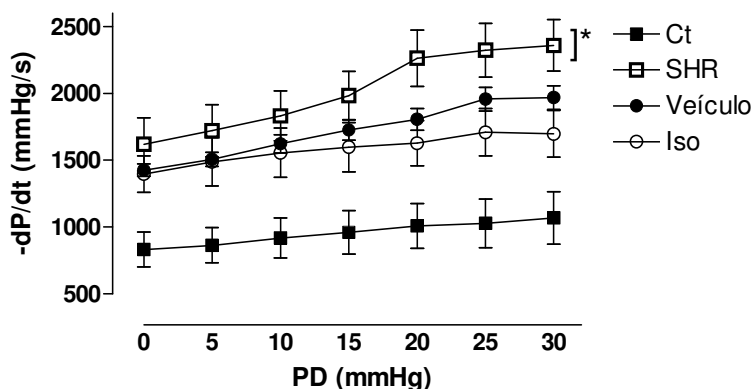


Figura 9. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da dP/dt_{\min} durante a curva de função ventricular. Os dados são expressos em média ± EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

3.1.4. Efeito do estiramento analisado pelo PF

A figura 11 ilustra o efeito do estiramento obtido pela curva de função ventricular analisado pelo PF. Observa-se um aumento gradativo de θ final, bem como um ganho na área em função do aumento de PD.

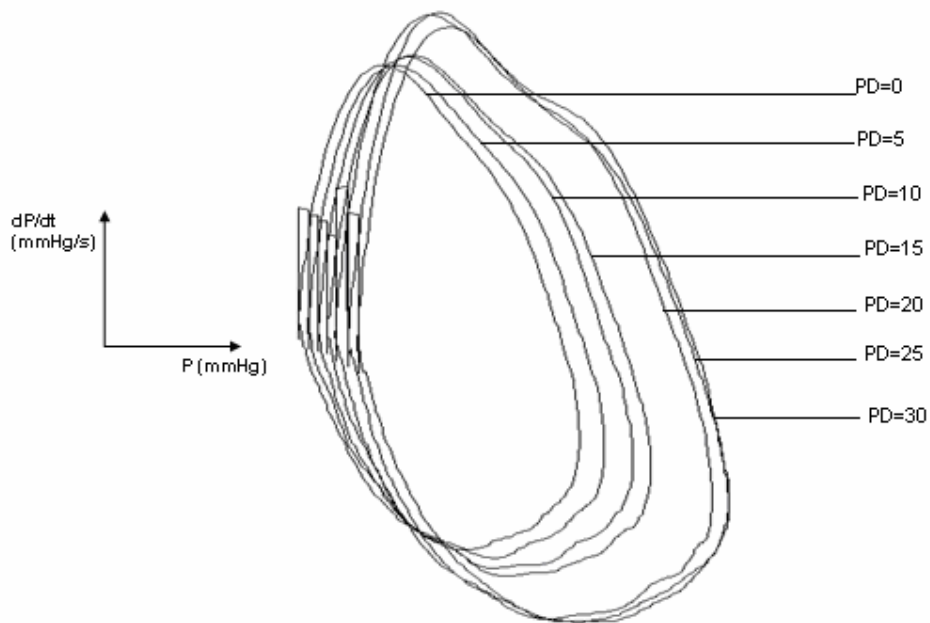


Figura 10. Efeito do estiramento analisado pelo plano de fase de uma unidade experimental do grupo SHR. As alças da esquerda para a direita representam os planos de fase obtidos nas PDs de 0 até 30mmHg.

3.1.5. Análise de θ

Os valores das inclinações obtidas na curva de função ventricular em cada grupo estão mostrados na figura 12. A inclinação θ aumenta de acordo com o aumento da PD em todos os grupos. Nos grupos SHR e ISO, este aumento acontece mais precocemente (em 10 mmHg), o que para os grupos Controle e Veículo é observado na PD de 15 mmHg, comparadas a PD de 0 mmHg de cada grupo.

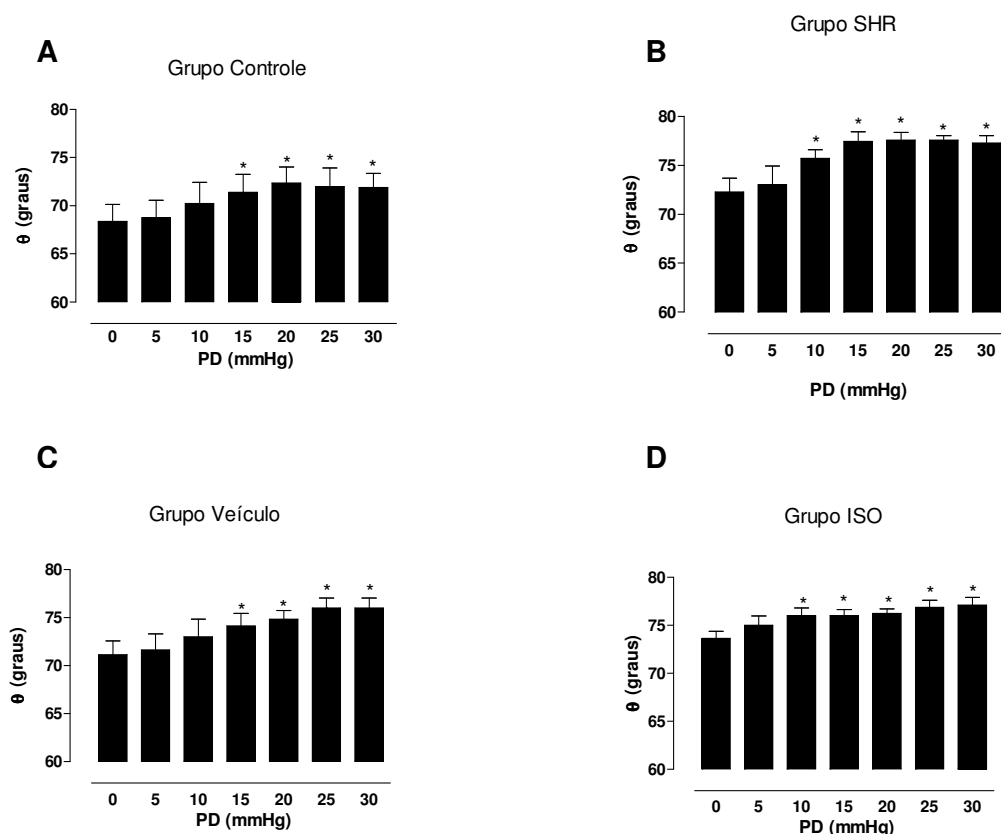


Figura 11. Inclinações do PF (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) obtidas durante a curva de Frank Starling. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs PD=0mmHg do mesmo grupo, ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher.

As figuras 13 e 14 mostram a comparação do comportamento de θ entre os grupos durante a curva de função ventricular. Os grupos controle e veículo tiveram suas inclinações com valores significativamente menores que os grupos SHR e ISO, comparado nas mesmas PDs, exceto que o grupo ISO comparado ao grupo veículo não foram diferentes nas últimas duas PDs da curva.

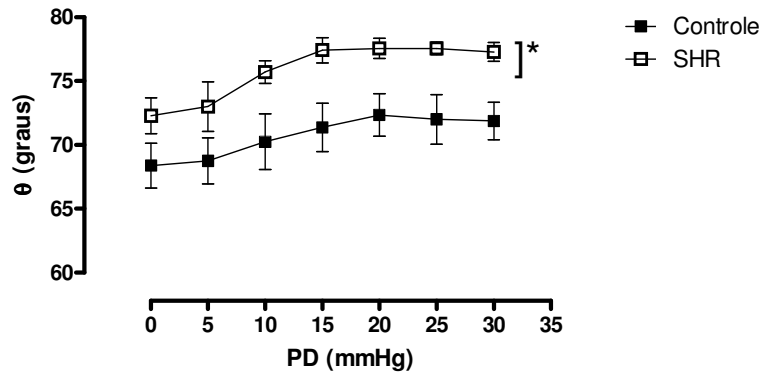


Figura 12. Comparação entre os grupos Controle (n=7) e SHR (n=7) das inclinações (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) durante a curva de função ventricular. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

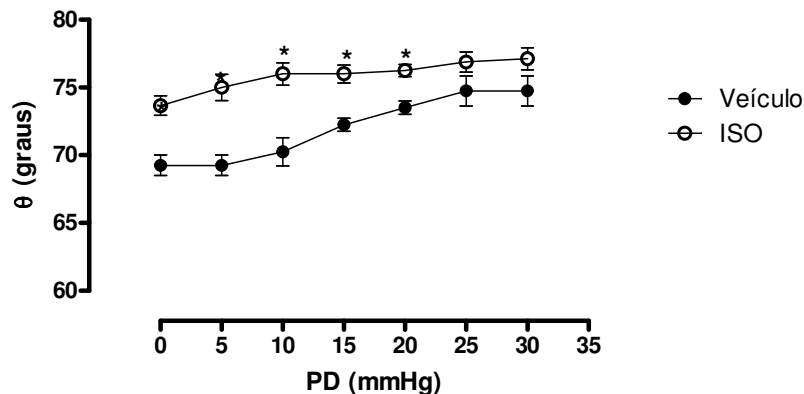


Figura 13. Comparação entre os grupos Veículo (n=6) e ISO (n=9) das inclinações (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) durante a curva de função ventricular. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs veículo. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

3.1.6. Análise da APF

Os incrementos da PD levaram a aumentos na APF em todos os grupos, nas PDs de 15, 20, 25 e 30 mmHg, comparadas à PD de 0 mmHg (figura 15).

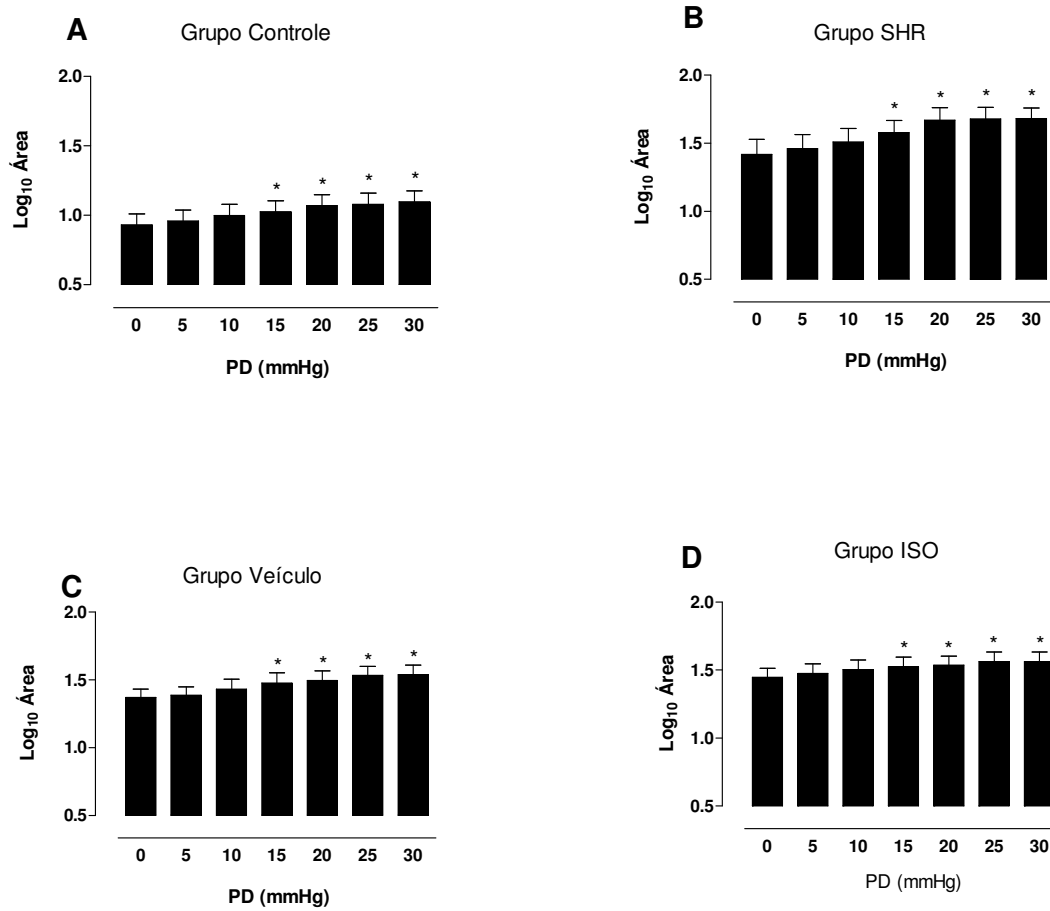


Figura 14. Log_{10} das áreas ($\sum dP/dt \times P$) obtidas durante a curva de função ventricular. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs PD=0mmHg do mesmo grupo, ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

A figura 16 e 17 mostram uma comparação das áreas do PF entre os grupo SHR/Controle e Veículo/ISO, respectivamente em função dos aumentos da PD. O grupo SHR teve suas áreas maiores que o Controle em todas as PDs observadas. Observou-se que os grupos Veículo e ISO não tiveram diferenças nos valores do Log_{10} de suas áreas.

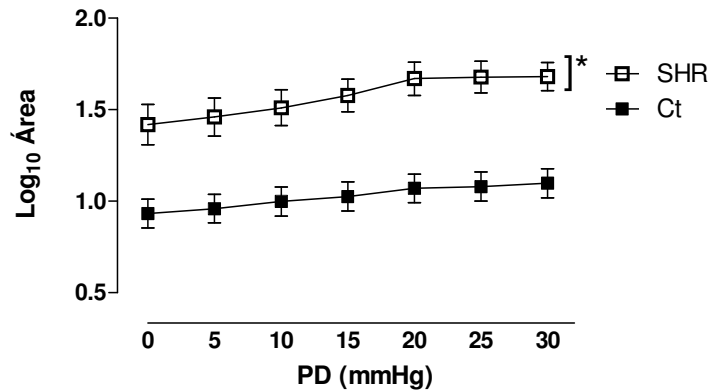


Figura 15. Comparação entre os grupos Controle e SHR do log_{10} das áreas do PF ($\sum dP/dt \times P$) durante a curva de função ventricular. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

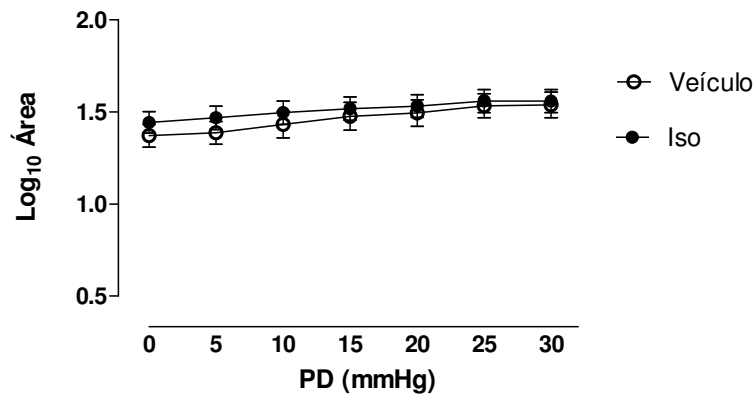


Figura 16. Comparação entre os grupos Veículo e ISO do log_{10} das áreas do PF ($\sum dP/dt \times P$) durante a curva de função ventricular. Os dados são expressos em média \pm EPM.

4. Regulações homeométricas

4.1. Curva de Frequência

4.1.1. Análise da Pressão Sistólica Isovolumétrica

Como esperado, a PSI sofreu decréscimos com os aumentos da frequência estimulada em todos os grupos, caracterizando o efeito escada negativo observado na espécie estudada. Além disso, os valores do grupo SHR foram maiores que do grupo Controle em todas as frequências. O grupo ISO se comportou semelhantemente ao Veículo (tabela 5 e figura 18).

Tabela 5. Pressão Sistólica Isovolumétrica (PSI) obtida pela curva de frequência dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.

PSI (mmHg)				
F (bpm)	Controle (n=7)	SHR (n=7)	Veículo (n=6)	ISO (n=9)
200	81±5	111±10 ^a	107±9	102±8
250	73±4	95±8 ^a	92±6	93±9
300	63±4	82±6 ^a	83±5	80±7
350	56±3	74±7 ^a	74±5	70±7
400	50±2	65±5 ^a	68±5	62±6
450	49±3	58±4 ^a	67±9	58±5

Os dados são expressos em média± EPM. ^a p<0,05 vs Controle, ^b p<0,05 vs Veículo. ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher.

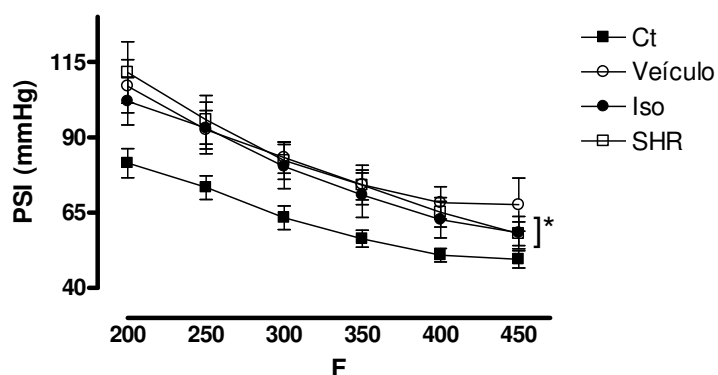


Figura 17. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da PSI durante a curva de frequência. Os dados são expressos em média ± EPM. *p<0,05 vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

A figura 19 mostra um registro típico da curva de frequência. Observou-se uma diminuição da PSI acompanhado de aumento da PD, apesar do volume do balão intraventricular ser o mesmo em todos os momentos da curva.

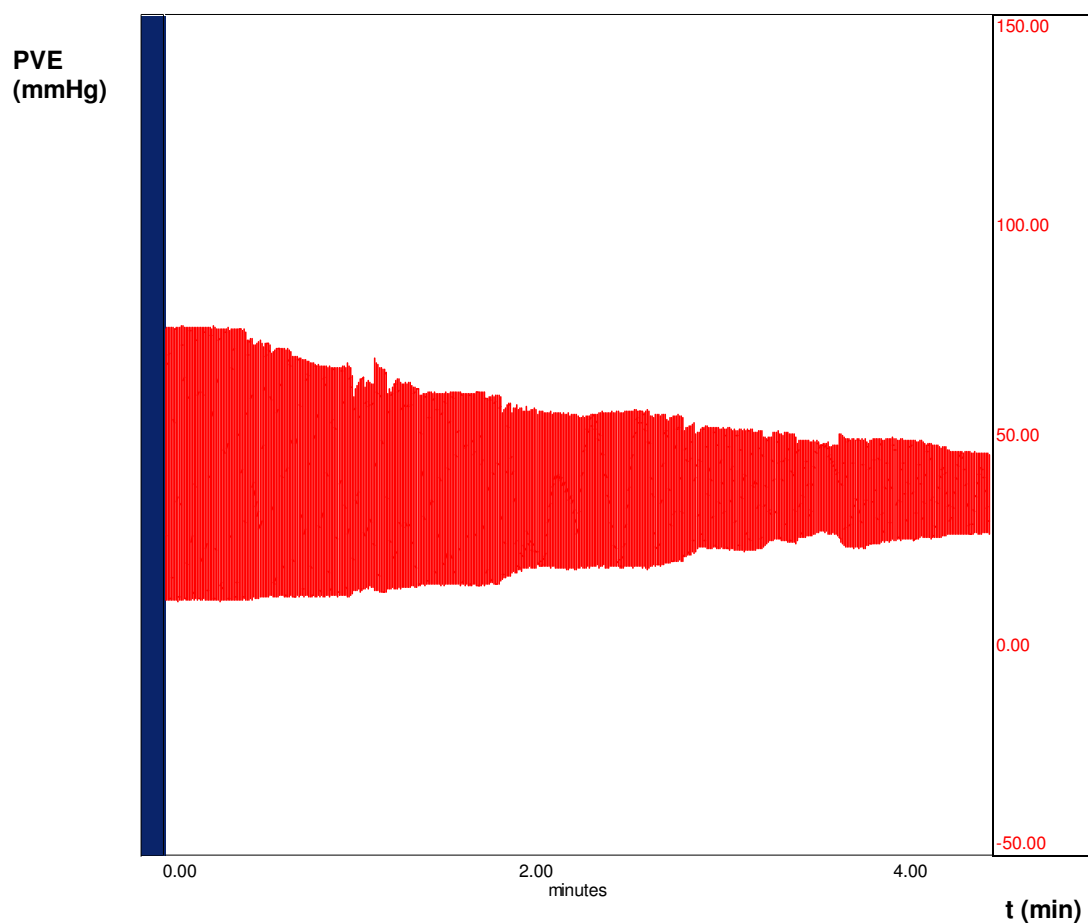


Figura 18: Registro típico da curva de frequência.

4.1.2. Análise da $dP/dt_{\text{máx}}$

A tabela 6 mostra os valores absolutos da $dP/dt_{\text{máx}}$ em função dos aumentos de frequência de estimulação. Em todos os grupos é observada diminuição conforme a frequência é aumentada. O grupo SHR teve seus valores maiores em todas as frequências comparados ao grupo Controle, o que não ocorre com o grupo ISO comparado ao grupo Veículo. A figura 20 mostra sob forma de curvas o comportamento da $dP/dt_{\text{máx}}$ em função da frequência de estimulação.

Tabela 6. Valores absolutos da $dP/dt_{\text{máx}}$ obtida pela curva de frequência dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.

$dP/dt_{\text{máx}}$ (mmHg/s)				
F (bpm)	Controle (n=7)	SHR (n=7)	Veículo (n=6)	ISO (n=9)
200	1257±108	1863±243 ^a	2013±241	1922±199
250	1199±110	1734±201 ^a	1891±210	1882±196
300	1026±114	1488±182 ^a	1706±154	1708±190
350	860±91	1294±226 ^a	1461±152	1487±208
400	644±65	975±174 ^a	1212±79	1168±198
450	465±67	707±146 ^a	1332±368	914±188

Os dados são expressos em média ± EPM. ^a $p < 0,05$ vs Controle, ^b $p < 0,05$ vs Veículo. ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher.

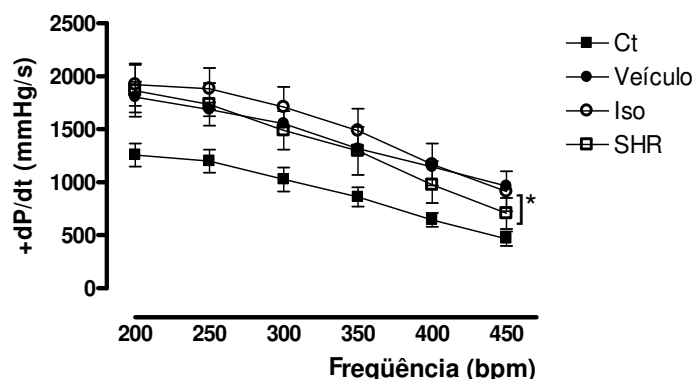


Figura 19. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da $dP/dt_{\text{máx}}$ durante a curva de frequência. Os dados são expressos em média ± EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

4.1.3. Análise da dP/dt_{\min}

A tabela 7 mostra os valores absolutos da dP/dt_{\min} em função dos aumentos de frequência de estimulação. Em todos os grupos ocorre diminuição desta variável conforme a frequência é aumentada. O grupo SHR teve seus valores maiores em todas as frequências comparados ao grupo Controle, o que não ocorre com o grupo ISO comparado ao grupo Veículo. A figura 21 mostra sob forma de curvas o comportamento da dP/dt_{\min} em função da frequência de estimulação.

Tabela 7. Valores absolutos da dP/dt_{\min} obtida pela curva de frequência dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.

dP/dt_{\min} (mmHg/s)				
F (bpm)	Controle (n=7)	SHR (n=7)	Veículo (n=6)	ISO (n=9)
200	813±112	1807±173 ^a	1627±74	1608±165
250	755±108	1630±143 ^a	1525±78	1536±160
300	681±98	1465±121 ^a	1421±69	1394±153
350	637±83	1367±158 ^a	1269±54	1258±151
400	565±70	1220±133 ^a	1172±50	1096±128
450	544±95	1070±110 ^a	1130±66	990±107

Os dados são expressos em média± EPM. ^a p<0,05 vs Controle, ^b p<0,05 vs Veículo. ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher.

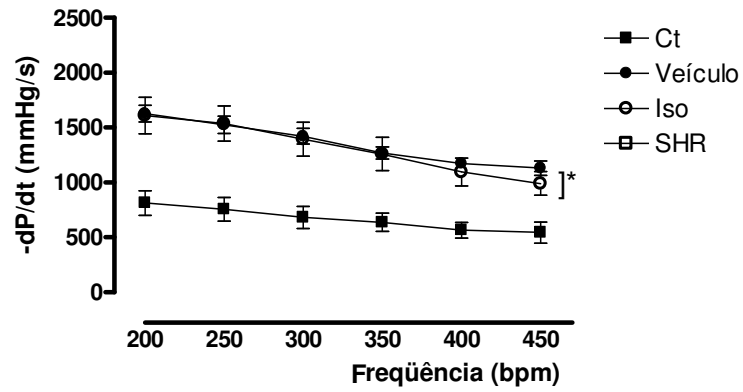


Figura 20. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da dP/dt_{\min} durante a curva de frequência. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

4.1.4. Efeito da frequência analisado pelo PF

A figura 22 ilustra o efeito da frequência de estimulação analisado pelo PF. Observa-se um aumento de θ final e um aumento na área em função do aumento da frequência.

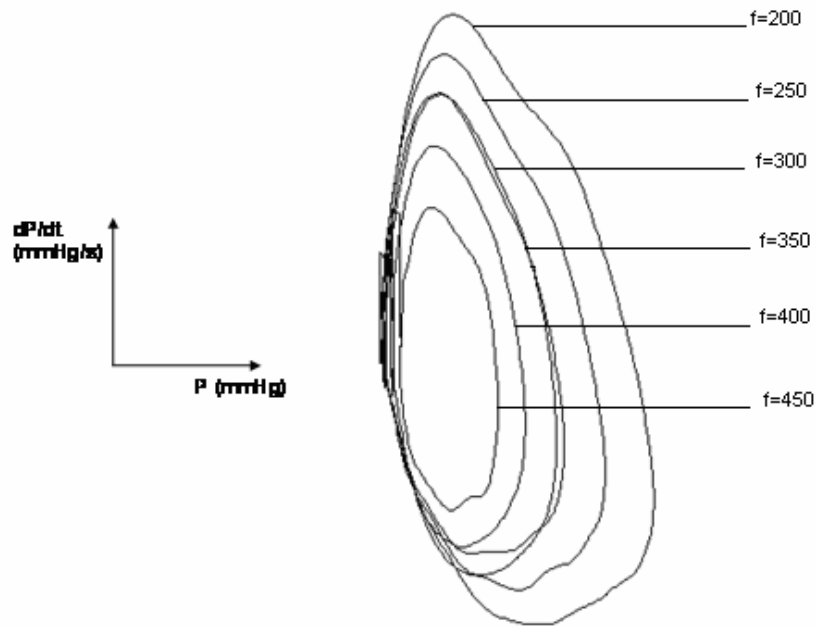


Figura 21. Efeito da frequência de estimulação cardíaca analisado pelo plano de fase de uma unidade experimental do grupo SHR. As alças da direita para a esquerda representam os planos de fase obtidos nas frequências de 200 a 450 bpm.

4.1.5. Análise de θ

O comportamento de θ durante a curva de frequência em cada grupo está demonstrado na figura 23. Foi unânime o fenômeno do aumento de θ a partir de uma frequência estimulada de 300 bpm comparada à inclinação a 200 bpm. As figuras 24 e 25 mostram um comparativo deste comportamento entre os grupos e não se observaram diferenças quando a frequência foi aumentada.

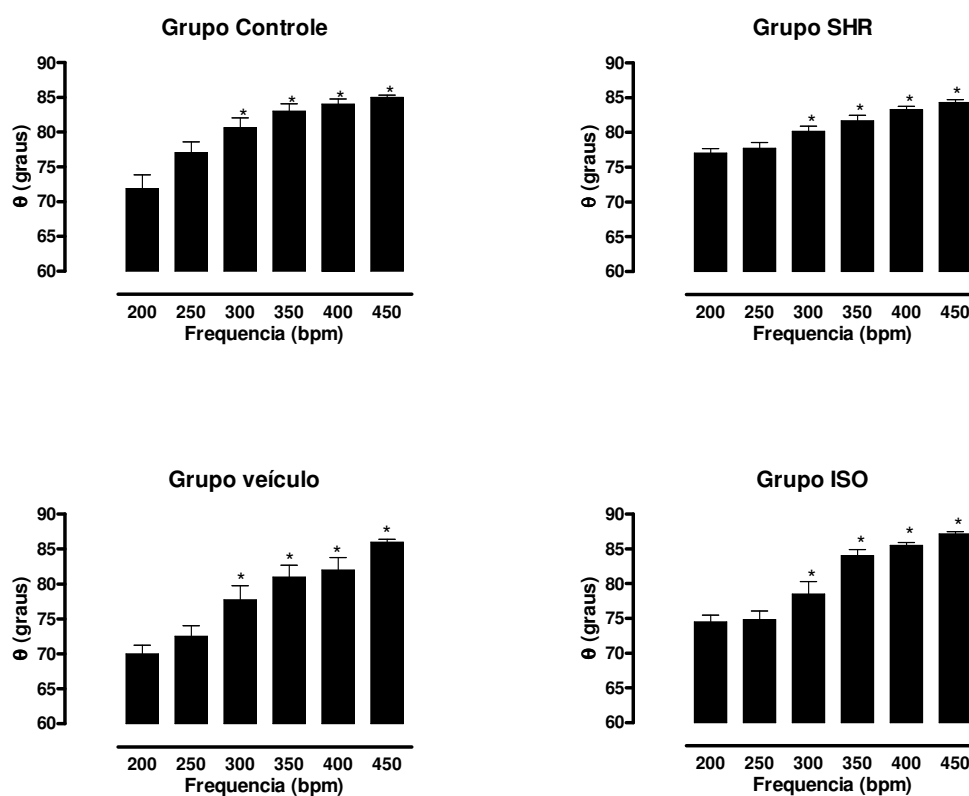


Figura 22. Inclinações do plano de fase (t'' : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) obtidas durante a curva de frequência. (A) grupo controle ($n= 7$); (B) grupo SHR ($n= 7$); (C) grupo veículo ($n= 6$); (D) grupo ISO ($n= 9$). Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs 200bpm do mesmo grupo, ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

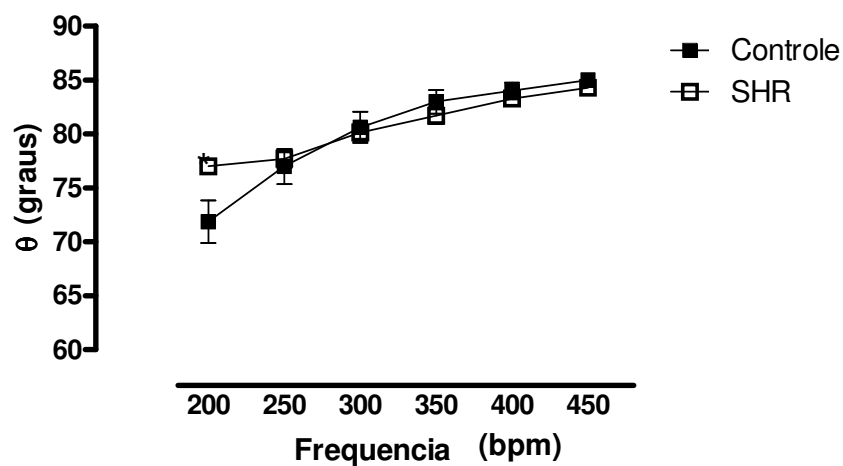


Figura 23. Comparação entre os grupos Controle e SHR das inclinações do PF (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) durante a curva de frequência. Os dados são expressos em média \pm EPM. $p > 0,05$ entre grupos. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

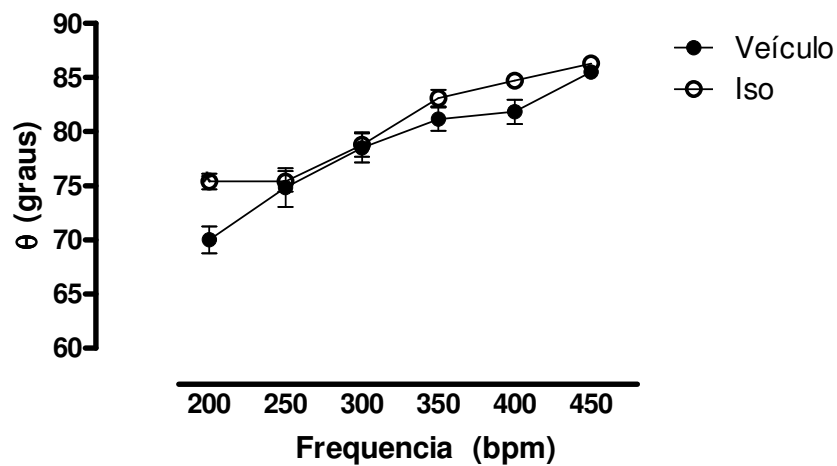


Figura 24. Comparação entre os grupos Veículo e ISO grupos das inclinações do PF (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) durante a curva de frequência. Os dados são expressos em média \pm EPM. $p > 0,05$ entre grupos. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

4.1.6. Análise da APF

Com relação à área, houve diminuição da mesma de acordo com os incrementos da frequência de estimulação. Em 300bpm, a diminuição da área passa a ser significativa comparado a estimulação inicial de 200bpm em todos os grupos (figura 26). Na comparação entre os grupos Controle e SHR (figura 27), este último apresentou seus planos de fase com áreas maiores em todas as frequências. Já os grupos Veículo e ISO não apresentaram diferenças (figura 28).

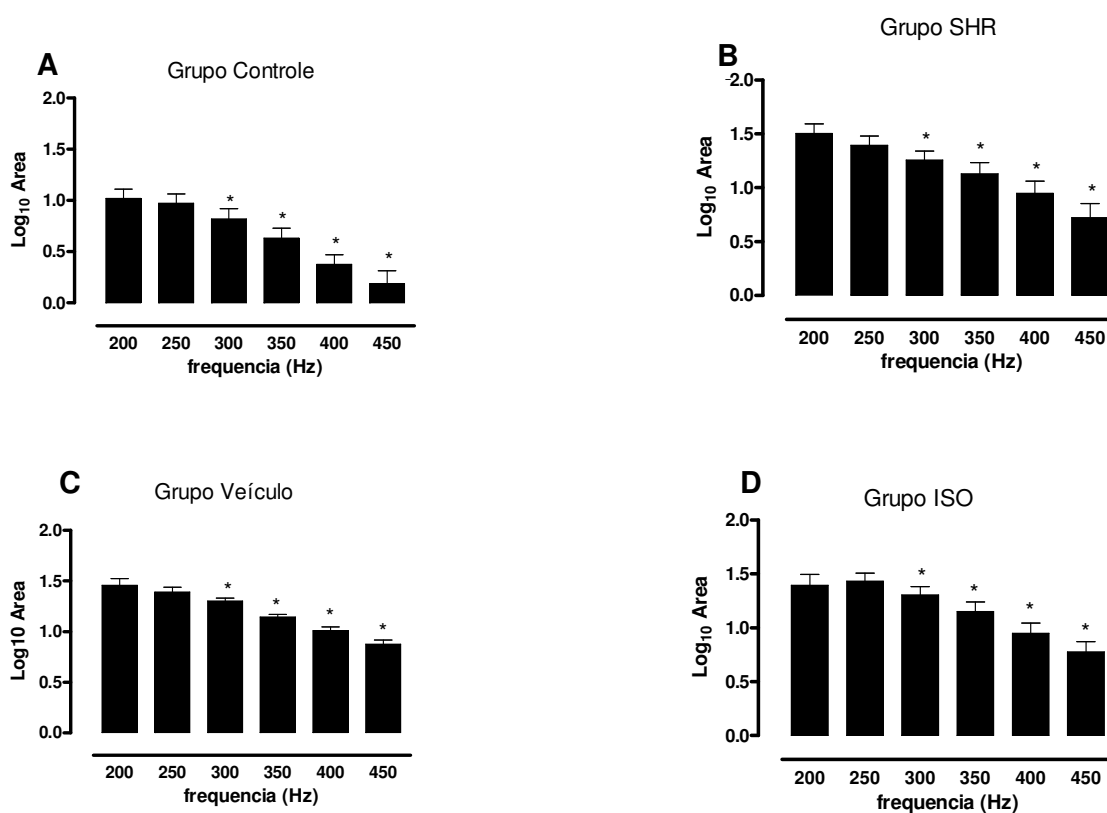


Figura 25. Log₁₀ da área do plano de fase ($\sum dP/dt \times P$) obtidas durante a curva de frequência de estimulação. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Os dados são expressos em média \pm EPM. * p<0,05 vs 200 bpm do mesmo grupo, ANOVA 1- via, *post hoc* Tukey.

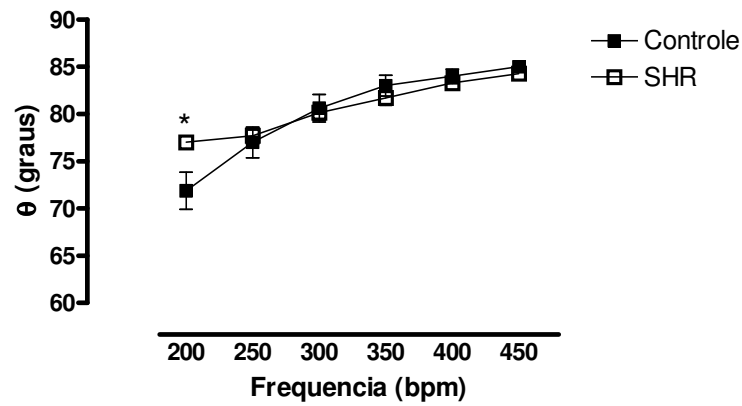


Figura 26. Comparação entre os grupos Controle e SHR do \log_{10} das áreas do PF ($\sum dP/dt \times P$) durante a curva de frequência. Os dados são expressos em média \pm EPM. $p < 0,05$ entre grupos ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

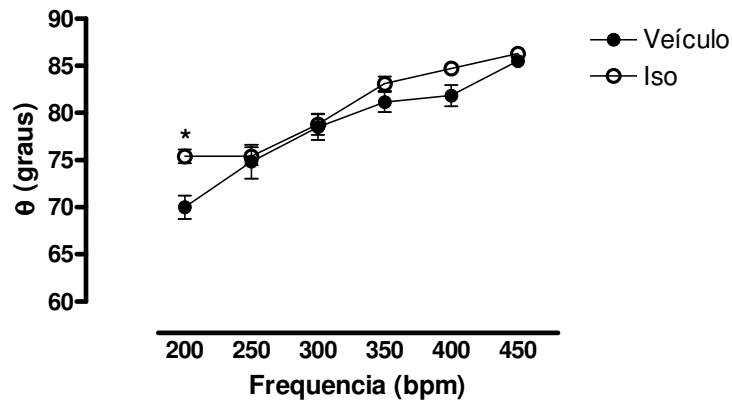


Figura 27. Comparação entre os grupos Veículo e ISO do \log_{10} das áreas do PF ($\sum dP/dt \times P$) durante a curva de frequência. Os dados são expressos em média \pm EPM. $p > 0,05$ entre grupos. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

4.2. Resposta inotrópica ao Cálcio extracelular

Como esperado, o aumento da concentração de cálcio na solução de perfusão elevou a PSI, a $dP/dt_{\text{máx}}$ e a $dP/dt_{\text{mín}}$ em todos os grupos (tabelas 8, 9 e 10).

4.2.1. Análise da Pressão Sistólica Isovolumétrica

A PSI se apresentou maior no grupo SHR comparada ao Controle nas concentrações de 0,62 e 1,25 mM, e na concentração de 2,5 mM as médias se equiparam. Os grupos Veículo e ISO responderam semelhantemente (tabela 8 e figura 29).

Tabela 8. Pressão Sistólica Isovolumétrica (PSI) obtida pela curva de cálcio dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.

[Ca ⁺²] _e (mM)	PSI (mmHg)			
	Controle (n=7)	SHR (n=7)	Veículo (n=6)	ISO (n=9)
0,62	54±6	70±5 ^a	68±6	66±4
1,25	77±4	105±8 ^a	103±5	109±7
2,50	126±11	126±9	125±5	142±8

Os dados são expressos em média± EPM. ^a p<0,05 vs Controle, ^b p<0,05 vs Veículo. ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher.

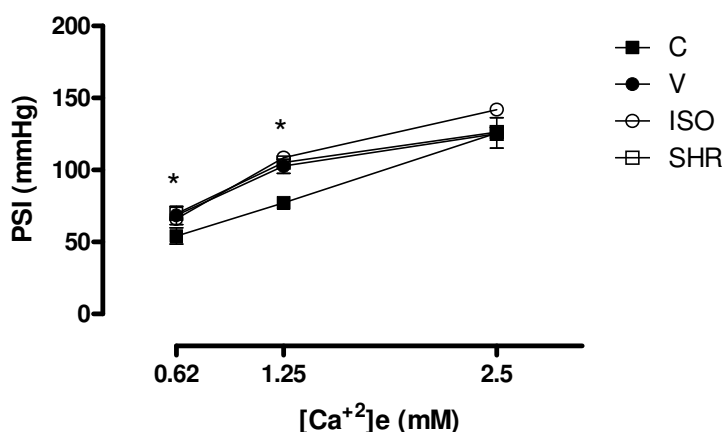


Figura 28. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da PSI durante a curva concentração resposta ao cálcio. Os dados são expressos em média ± EPM. *p<0,05 vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

4.2.2. Análise da $dP/dt_{\text{máx}}$

A $dP/dt_{\text{máx}}$ se mostrou aumentada no grupo SHR apenas na concentração de 1,25 mM, comparado ao grupo Controle. Já o grupo ISO teve seus valores aumentados em relação ao grupo Veículo na concentração de 2,5 mM (tabela 9 e figura 30).

Tabela 9. Valores absolutos de $dP/dt_{\text{máx}}$ obtida pela curva de cálcio dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.

$dP/dt_{\text{máx}}$ (mmHg)				
$[Ca^{+2}]_e$ (mM)	Controle (n=7)	SHR (n=7)	Veículo (n=6)	ISO (n=9)
0,62	798±116	931±86	840±64	954±93
1,25	1211±98	1771±189 ^a	1721±92	1867±174
2,50	2270±202	2419±298	2387±141	2945±208 ^b

Os dados são expressos em média± EPM. ^a $p<0,05$ vs Controle, ^b $p<0,05$ vs Veículo. ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher.

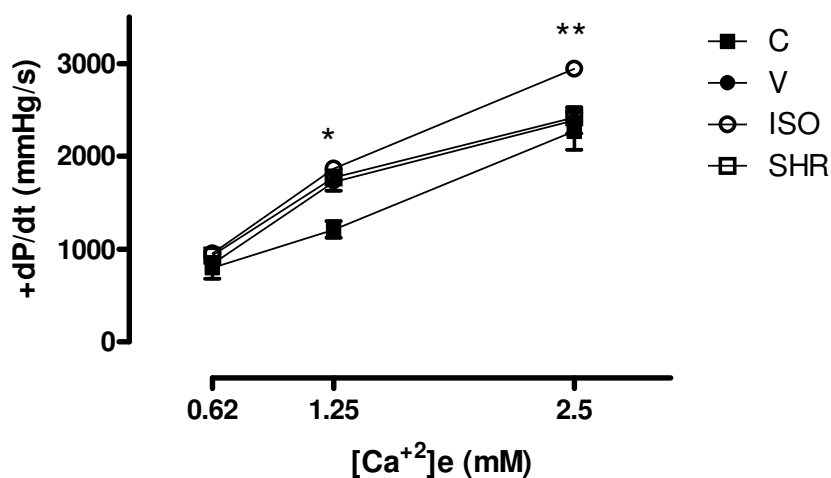


Figura 29. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da $dP/dt_{\text{máx}}$ durante a curva concentração resposta ao cálcio. Os dados são expressos em média ± EPM. * $p<0,05$ vs controle, ** $p<0,05$ vs Veículo. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

4.2.3. Análise da dP/dt_{\min}

Quanto à dP/dt_{\min} , as respostas do grupo SHR foram maiores nas três concentrações em relação ao Controle. Os grupos Veículo e ISO não tiveram diferenças significantes entre si nas respostas (tabela 10 e figura 31).

Tabela 10. Valores absolutos de dP/dt_{\min} obtida pela curva de frequência dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.

$[Ca^{+2}]_e$ (mM)	dP/dt_{\min} (mmHg)			
	Controle (n=7)	SHR (n=7)	Veículo (n=6)	ISO (n=9)
0,62	514±108	1023±79 ^a	987±51	878±77
1,25	790±103	1696±134 ^a	1597±41	1611±157
2,50	1311±133	2037±159 ^a	1963±154	1994±174

Os dados são expressos em média± EPM. ^a $p<0,05$ vs Controle, ^b $p<0,05$ vs Veículo. ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher.

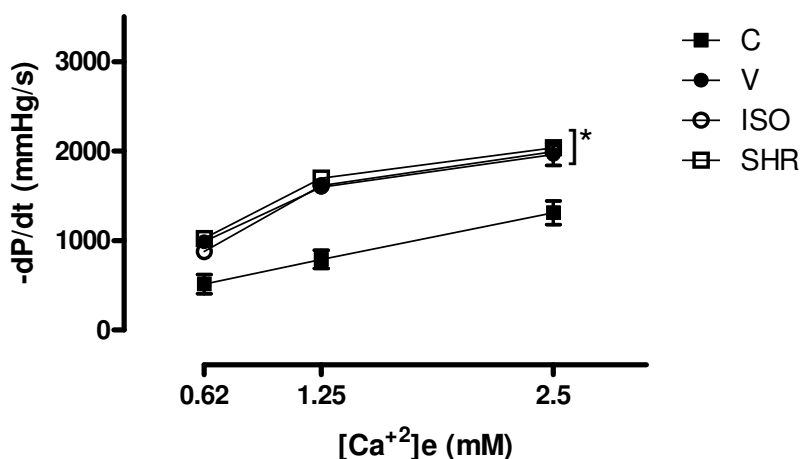


Figura 30. Comparação entre os grupos Controle (n=7), SHR (n=7), Veículo (n=6) e ISO (n=9) da dP/dt_{\min} durante a curva concentração resposta ao cálcio. Os dados são expressos em média ± EPM. * $p<0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

4.2.4. Efeito da concentração de cálcio extracelular analisado pelo PF

A figura 32 ilustra o efeito da concentração de cálcio extracelular analisado pelo PF. Observa-se um aumento de θ final, bem como um ganho na área em função do aumento da concentração.

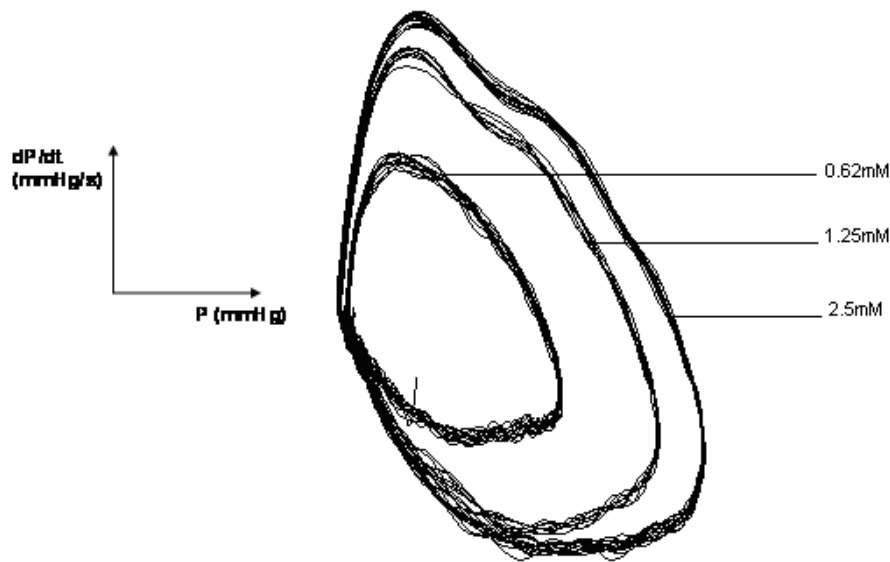


Figura 31. Efeito do aumento da concentração de cálcio extracelular analisado pelo plano de fase de uma unidade experimental do grupo SHR. As alças da esquerda para a direita representam os planos de fase obtidos nas concentrações de 0.62; 1.25 e 2.5 mM, respectivamente.

4.2.5. Análise de θ

Os incrementos na concentração de cálcio extracelular levaram a aumentos de θ em todos os grupos (figura 33). Dessa forma, todos tiveram aumentos significantes na presença de concentrações mais altas (1,25 e 2,5 mM).

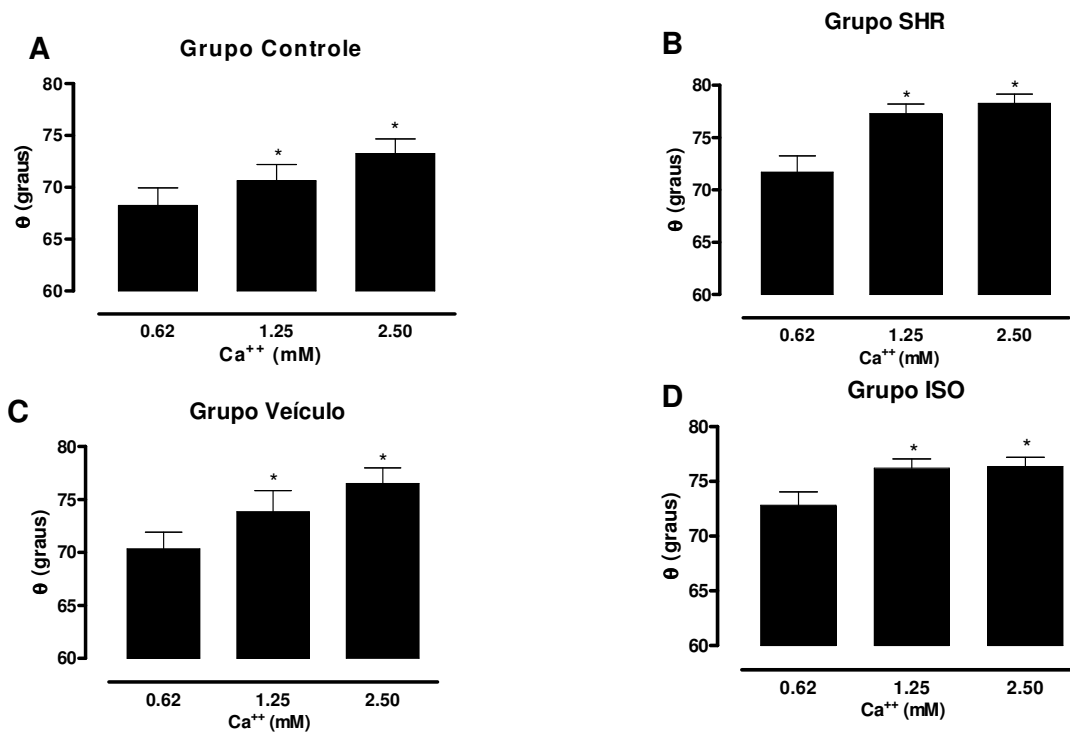


Figura 32. Inclinações do plano de fase (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) obtidas durante a curva de cálcio. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs 0,62 mM do mesmo grupo, ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

A figura 34 e 35 mostram as comparações entre os grupos Controle/SHR e Veículo/ISO, respectivamente das inclinações obtidas com a curva de cálcio. No grupo SHR houveram inclinações maiores que as do Controle nas concentrações de 1,25 e 2,5 mM. O grupo ISO teve Θ maior apenas na concentração de 1,25 mM.

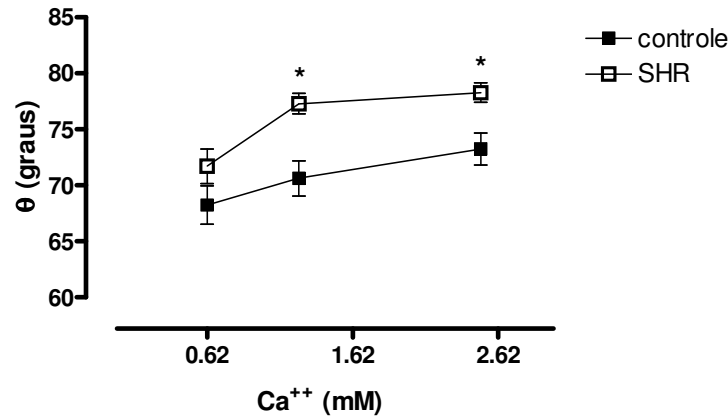


Figura 33. Comparação entre os grupos Controle e SHR das inclinações do PF (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) durante a curva de cálcio. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

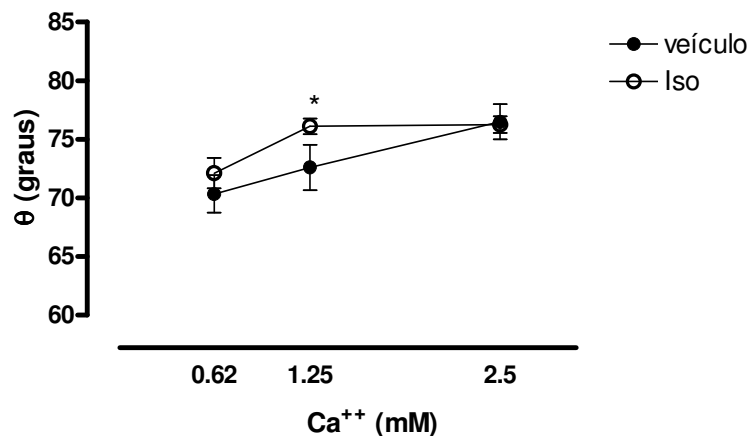


Figura 34. Comparação entre os grupos Veículo e ISO das inclinações do PF (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) durante a curva de cálcio. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

4.2.6. Análise da APF

O aumento da APF ocorreu em todos os grupos com os incrementos da concentração de cálcio extracelular, sendo significantes comparados à concentração de 0,62 mM (figura 36).

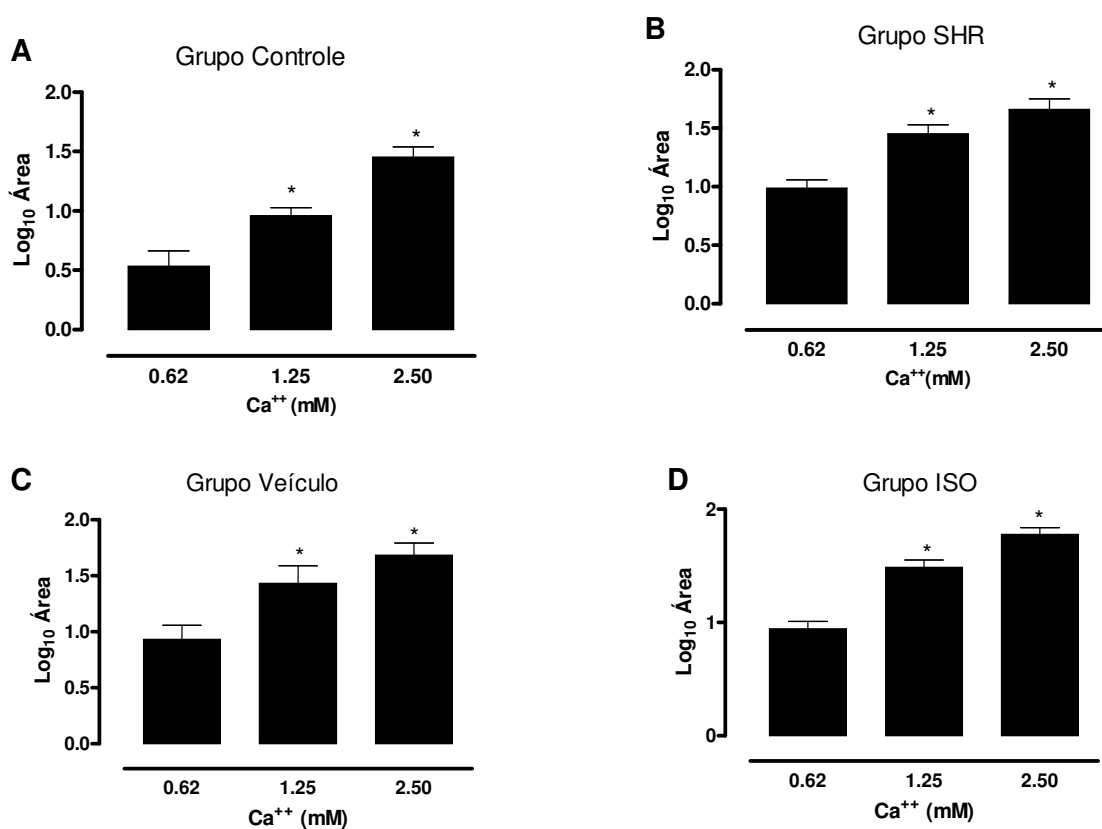


Figura 35. Log_{10} da área do plano de fase ($\sum dP/dt \times P$) obtidas durante a curva de cálcio. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs 0,62 mM do mesmo grupo, ANOVA 1-via, *post hoc* Fisher.

As figuras 37 e 38 mostram uma comparação entre os grupos Controle/SHR e Veículo/ISO, respectivamente das áreas obtidas com a curva de cálcio. No grupo SHR houveram inclinações maiores que as do Controle nas concentrações de 0,62 e 1,25 mM. Os grupos Veículo e ISO tiveram comportamentos semelhantes.

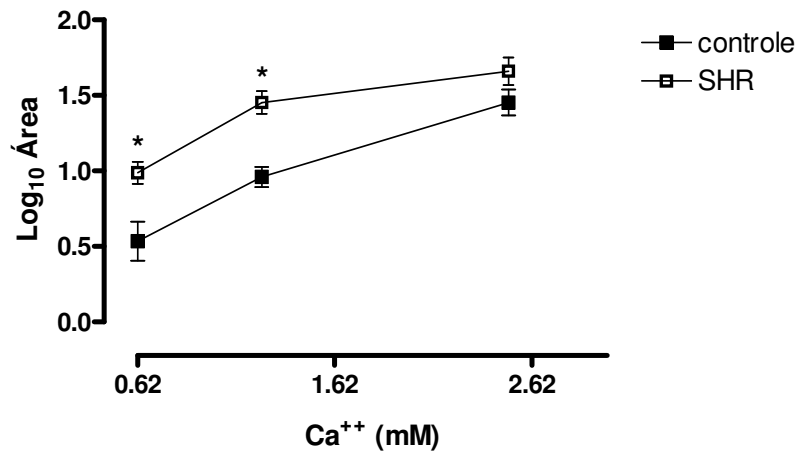


Figura 36. Comparação entre os grupos controle e SHR do \log_{10} das áreas do PF ($\sum dP/dt \times P$) durante a curva de cálcio. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ SHR vs Controle. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

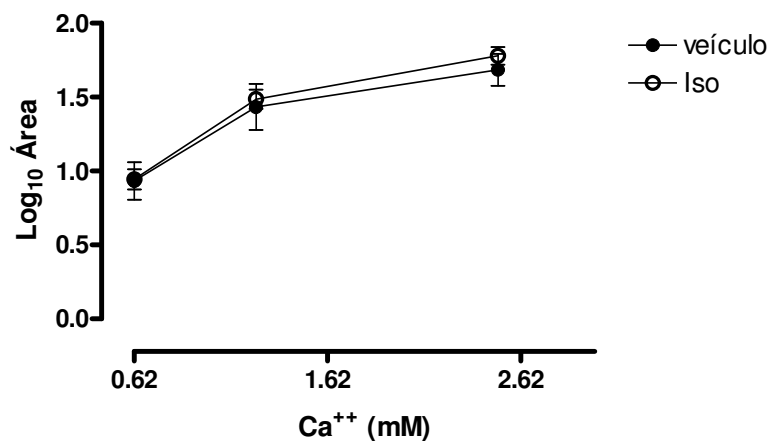


Figura 37. Comparação entre os grupos Veículo e ISO do \log_{10} das áreas do PF ($\sum dP/dt \times P$) durante a curva de cálcio. Os dados são expressos em média \pm EPM. $p > 0,05$ entre grupos. ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

4.3. Resposta β -adrenérgica

A resposta β -adrenérgica foi avaliada pela PSI máxima atingida após aplicação de isoproterenol (10^{-5} M) *in bolus* no sistema de infusão de solução com concentração de cálcio de 0,62 mM. A partir desse estímulo, permitiu-se observar um efeito inotrópico positivo em todos os grupos, sendo que no grupo ISO a resposta foi menos intensa (vide as porcentagens nas tabelas 11, 12 e 13), provavelmente por *downregulation* dos receptores β -adrenérgicos em resposta ao tratamento crônico com isoproterenol.

4.3.1. Análise da Pressão Sistólica Isovolumétrica

Como esperado, a PSI aumentou após a intervenção em todos os grupos, porém no grupo ISO a resposta foi atenuada (56%). Não houve diferença entre os grupos com relação à PSI basal, nem à resposta ao ISO (tabela 11).

Tabela 11. Pressão sistólica isovolumétrica (PSI) obtida antes e após a aplicação de Isoproterenol (10^{-5} mM) dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.

PSI (mmHg)				
	Controle (n=7)	SHR (n=7)	Veículo (n=6)	ISO (n=9)
Basal	51±6	64±4	67±6	62±5
ISO	97±9* (90%)	119±11* (85%)	116±8* (73%)	97±9* (56%)

Os dados são expressos em média± EPM. * $p<0,05$ vs basal, ^a $p<0,05$ vs Controle, ^b $p<0,05$ vs Veículo. Teste *t* de *Student* pareado e não pareado.

4.3.2. Análise da $dP/dt_{\text{máx}}$

Todos os grupos responderam com aumento dos valores absolutos da $dP/dt_{\text{máx}}$ após a intervenção em igual ou mais de 150% da $dP/dt_{\text{máx}}$ obtida em situação basal, com exceção do grupo ISO, que deprimiu seu valor, chegando a ser significativamente menor que o do grupo Veículo (tabela 12).

Além disso, a magnitude da resposta ao isoproterenol do grupo SHR foi significativamente maior que a do grupo Controle (tabela 12).

Tabela 12. Valores absolutos de $dP/dt_{\text{máx}}$ obtida antes e após a aplicação de Isoproterenol dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.

	$dP/dt_{\text{máx}}$ (mmHg/s)			
	Controle (n=7)	SHR (n=7)	Veículo (n=6)	ISO (n=9)
Basal	767±120	1014±171	795±60	1434±302
ISO	1920±233 [*] (150%)	2581±341 ^{a*} (154%)	2158±168 [*] (171%)	1362±217 ^b (-5%)

Os dados são expressos em média± EPM. * $p<0,05$ vs basal, ^a $p<0,05$ vs Controle, ^b $p<0,05$ vs Veículo. Teste *t* de Student pareado e não pareado.

4.3.3. Análise da $dP/dt_{\text{mín}}$

A tabela 13 mostra os valores absolutos da $dP/dt_{\text{mín}}$ na situação basal e após a aplicação de isoproterenol. Todos os grupos tiveram aumentos significantes após a intervenção e o grupo SHR apresentou valor absoluto significantemente maior que o grupo Controle, apesar deste último ter respondido mais em relação ao basal (172%).

Tabela 13. Valores absolutos de $dP/dt_{\text{mín}}$ obtida antes e após a aplicação de Isoproterenol dos grupos Controle, SHR, Veículo e ISO.

	$dP/dt_{\text{mín}}$ (mmHg/s)			
	Controle (n=7)	SHR (n=7)	Veículo (n=6)	ISO (n=9)
Basal	538±138	952±60	920±62	844±91
ISO	1467±230 [*] (172%)	2211±225 ^{a*} (132%)	1900±123 [*] (106%)	1554±195 [*] (84%)

Os dados são expressos em média± EPM. * $p<0,05$ vs basal, ^a $p<0,05$ vs Controle, ^b $p<0,05$ vs Veículo. Teste *t* de Student pareado e não pareado.

4.3.4. Análise do Tempo de Relaxamento (TR)

O tempo de relaxamento antes e após a administração de isoproterenol está representado na figura 39. Observou-se que apenas o grupo ISO não teve diminuição significativa deste parâmetro.

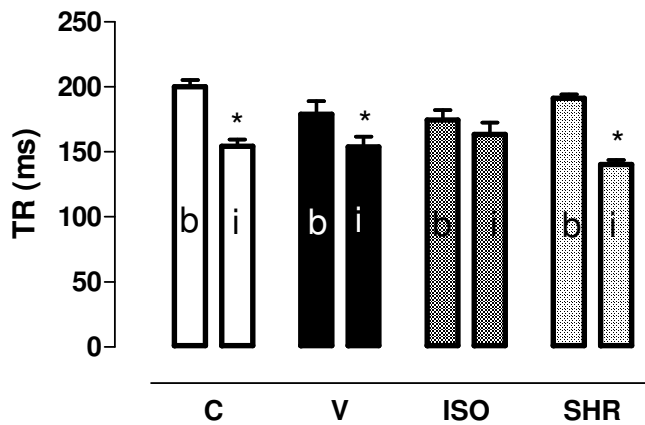


Figura 38: Tempo de relaxamento na situação basal (b) e após a administração de isoproterenol (i) dos grupos Controle (Ct), Veículo, ISO e SHR. Teste *t de Student* com $*p<0,05$ vs b do mesmo grupo.

4.3.5. Efeito do isoproterenol analisado pelo PF

A figura 40 ilustra o efeito do isoproterenol analisado pelo PF. Observa-se um aumento de θ final, bem como um ganho na área.

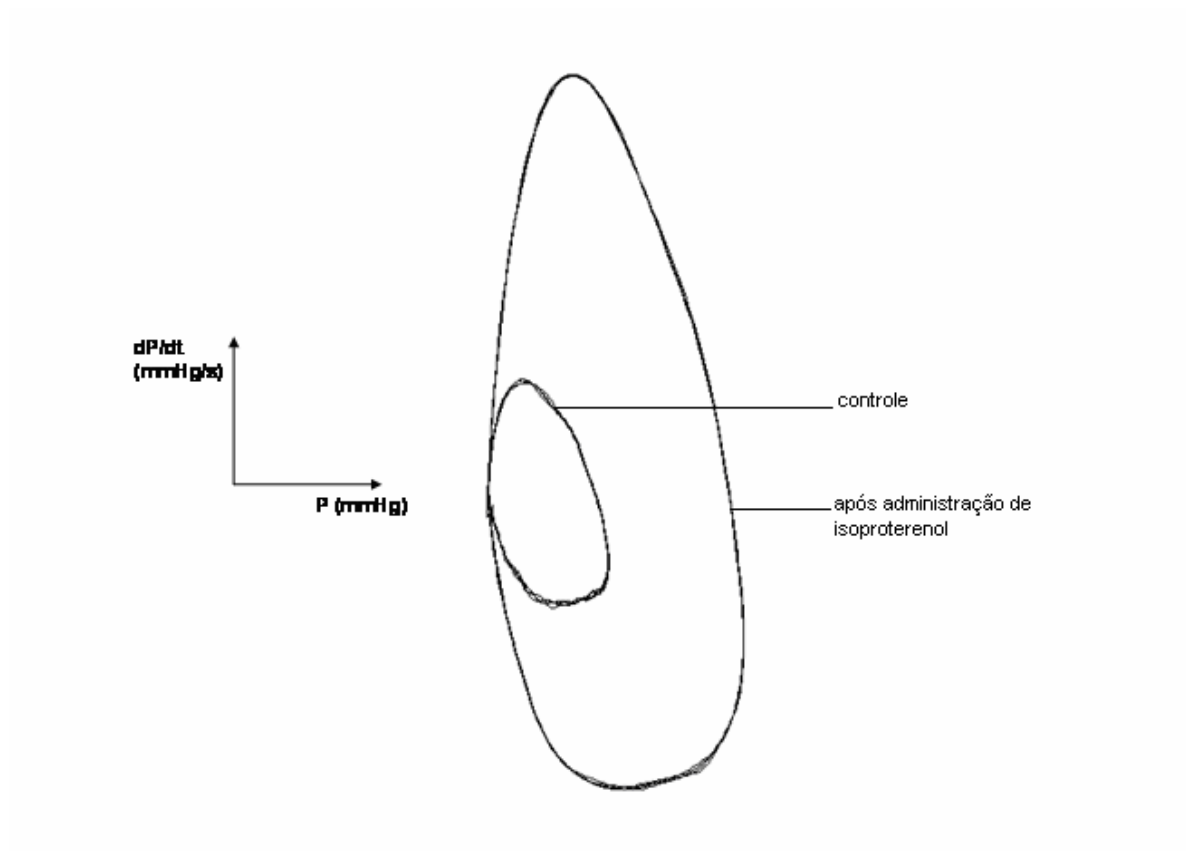


Figura 39. Efeito do isoproterenol analisado pelo plano de fase de uma unidade experimental do grupo SHR. A alça menor representa o plano de fase obtido antes da aplicação do isoproterenol e a alça maior representa o plano de fase após a administração de isoproterenol (10^{-5} M).

4.3.6. Análise de θ

A estimulação com isoproterenol foi capaz de aumentar θ de todos os grupos significativamente como mostra a figura 41. Dentro da coluna sem preenchimento observa-se a variação percentual de θ observada em cada grupo após a dose de isoproterenol. Como esperada, a resposta do grupo ISO à estimulação foi menor, tendo então a menor variação percentual de θ .

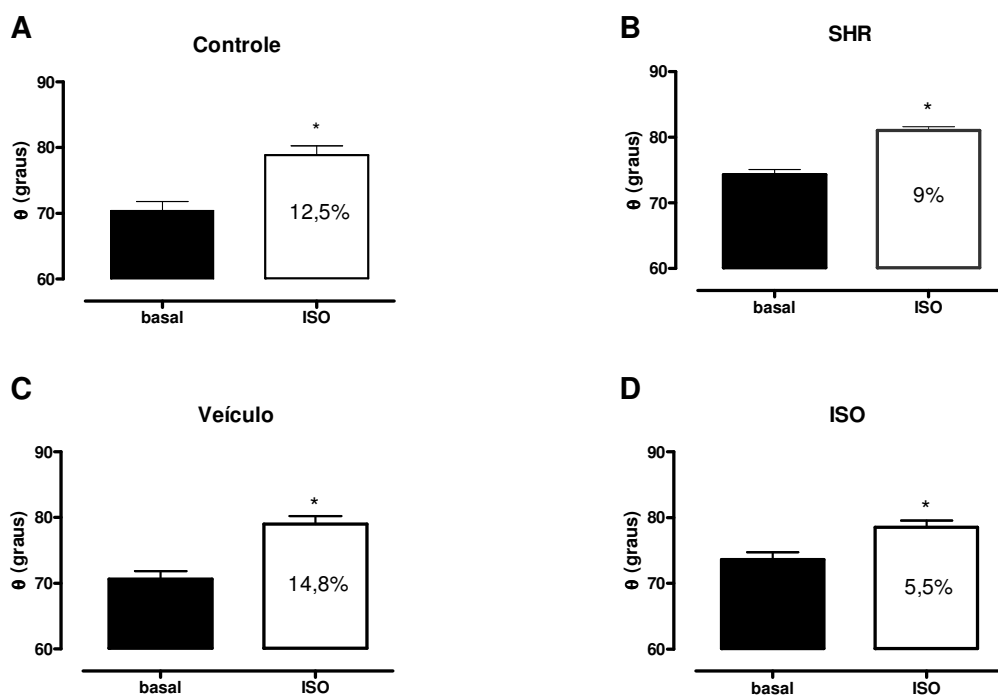


Figura 40. Comparação da inclinação final do plano de fase (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico) entre antes e após a dose de isoproterenol em cada grupo. (A) grupo controle ($n=7$); (B) grupo SHR ($n=7$); (C) grupo veículo ($n=6$); (D) grupo ISO ($n=9$). Variação percentual entre parênteses. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs antes do mesmo grupo, ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

4.3.7. Análise da APF

Em todos os grupos a dose de isoproterenol provocou aumento significativo da APF comparada à basal, como mostra a figura 42. Com relação à variação percentual da área, o grupo ISO teve a menor dentre os grupos, porém a diferença foi significativa somente em relação ao grupo SHR (figura 41).

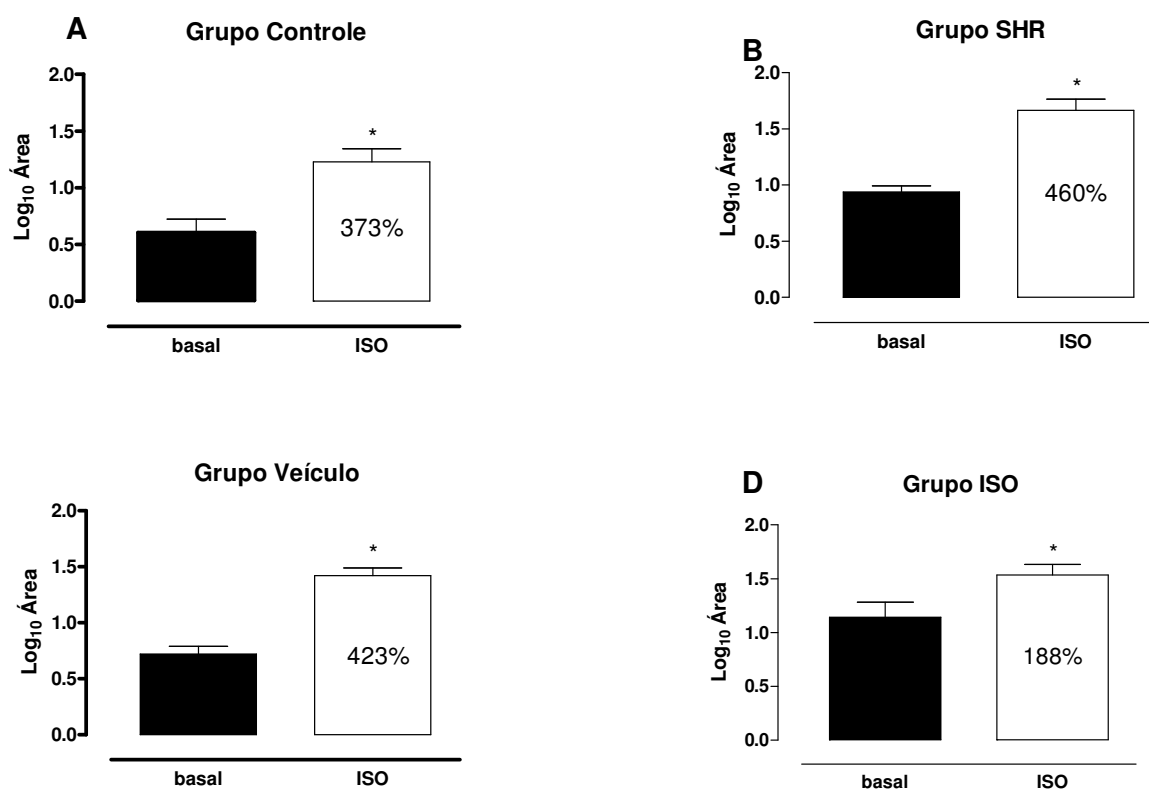


Figura 41. Comparação da área do plano de fase ($\sum dP/dt \times P$) entre antes e após a dose de isoproterenol em cada grupo. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Variação percentual entre parênteses. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs basal do mesmo grupo, ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

A figura 43 mostra a comparação dos aumentos percentuais da APF após a administração de isoproterenol. Observou-se que a resposta foi atenuada no grupo ISO, provavelmente devido à “downregulation” dos receptores beta-adrenérgicos.

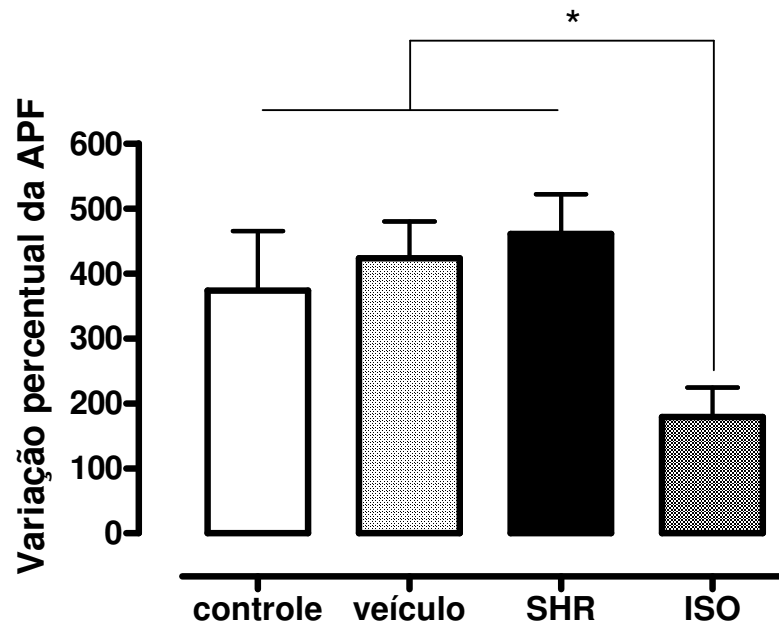


Figura 42. Comparação dos aumentos percentuais da área do plano de fase ($\sum dP/dt \times P$) após a dose de isoproterenol em cada grupo. (A) grupo controle (n= 7); (B) grupo SHR (n= 7); (C) grupo veículo (n= 6); (D) grupo ISO (n= 9). Variação percentual entre parênteses. Os dados são expressos em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs ISO, ANOVA 2-vias, *post hoc* Fisher.

5. Correlação de θ com as variáveis PS, $dP/dt_{\text{máx}}$ e $dP/dt_{\text{mín}}$.

Com o intuito de analisar o comportamento de θ não só com relação às características passivas no músculo cardíaco, apresentadas na comparação entre os modelos aqui estudados, mas também sobre as intervenções inotrópicas, lusitrópicas e cronotrópicas, as quais provocaram mudanças em θ , foram realizadas correlações entre esta variável e a PSI, a $dP/dt_{\text{máx}}$ e a $dP/dt_{\text{mín}}$, respectivamente (figuras 43, 44 e 45).

A figura 43 mostra uma correlação positiva significativa ($r=0,60$) entre θ final e a PSI. O mesmo se procedeu com relação a $dP/dt_{\text{máx}}$ e a $dP/dt_{\text{mín}}$ ($r=0,56$; $r=0,61$, respectivamente)

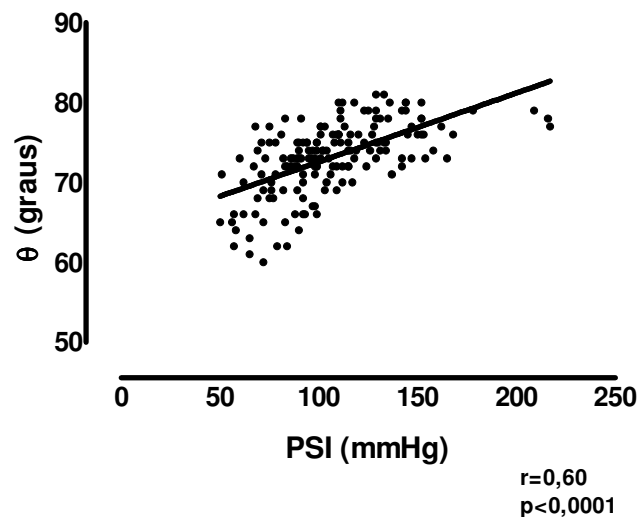


Figura 43. Correlação da pressão sistólica isovolumétrica (PSI) com a inclinação final do plano de fase de todas as unidades experimentais (t^1 : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico).

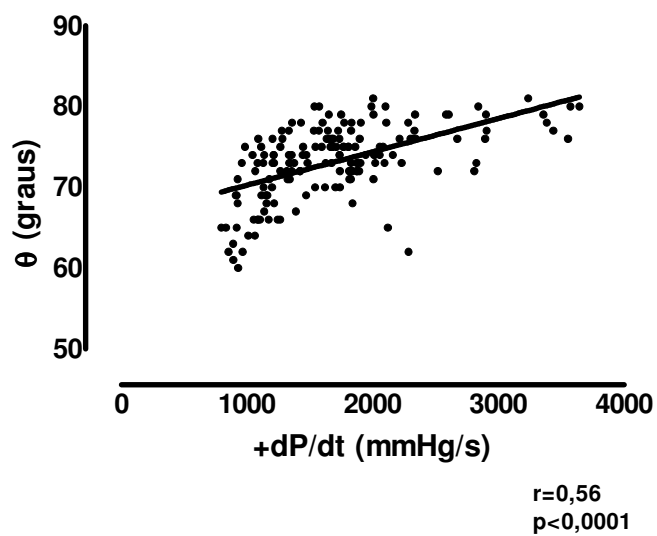


Figura 44. Correlação da $dP/dt_{\text{máx}}$ com a inclinação final do plano de fase de todas as unidades experimentais (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico).

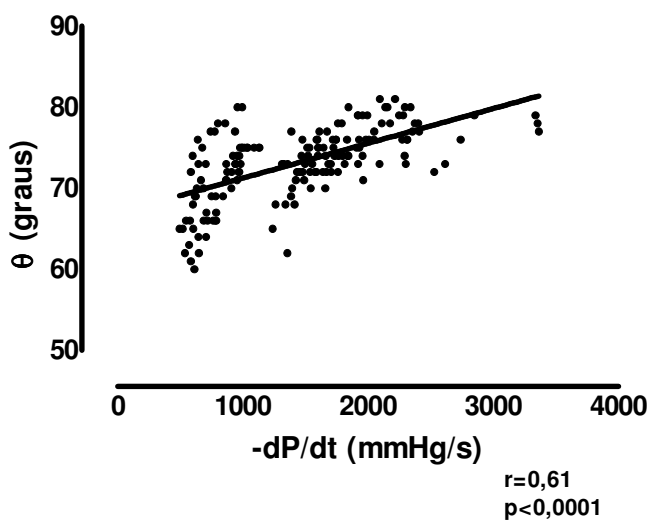


Figura 45. Correlação da $dP/dt_{\text{mín}}$ com a inclinação final do plano de fase de todas as unidades experimentais (t^{-1} : índice correspondente a constante de tempo da fase de relaxamento isovolumétrico).

DISCUSSÃO

Discussão

Os resultados apresentados no presente trabalho mostraram que medidas inotrópicas foram capazes de alterar de forma diretamente proporcional a APF, revelando este ser um índice relacionado ao trabalho sistólico. Além disso, a alteração do relaxamento diastólico do ventrículo esquerdo, provocado pela hipertrofia miocárdica modifica a velocidade de relaxamento ventricular. Isto se traduz por diminuição do tempo de relaxamento isovolumétrico, alterando a inclinação θ .

O músculo é formado por componentes contráteis e componentes elásticos, em série e em paralelo, de modo que para desenvolver tensão isométrica, o componente elástico se estira ocupando o lugar do componente contrátil que se encurta, não mudando o comprimento da fibra. O processo de relaxamento tem início quando a força armazenada nos componentes elásticos se torna maior do que aquela gerada pelo componente contrátil, sendo inclusive observada tensão muscular mesmo após o término da ação do componente contrátil, desde que exista força armazenada nos componentes elásticos (Vassallo & Paes de Carvalho, 1979). Uma vez que os componentes elásticos são representados principalmente pela matriz extracelular, citoesqueleto (Leite-Moreira, 2006) e pelas próprias proteínas dos miofilamentos, em destaque a titina (Helmès *et al.*, 1996), modificações nessas estruturas abalam o processo de relaxamento.

A hipertrofia ventricular esquerda é a causa mais importante de disfunção diastólica acompanhada por aumento da massa dos miócitos e dos componentes da matriz extracelular, notadamente os fibroblastos. Isso reduz a capacidade de estiramento do componente elástico acarretando em diminuição de complacência e rigidez da câmara ventricular (Leite-Moreira, 2006). Sabendo-se disso propusemos através dos modelos de hipertrofia ventricular esquerda presente em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e em ratos pré-tratados com isopreterenol a análise do relaxamento isovolumétrico e da inclinação θ , através do PF como uma ferramenta de medida de contratilidade e de velocidade de contratilidade.

Utilizando o registro de contrações isovolumétricas e de sua primeira derivada temporal, para a construção do PF, encontra-se neste plano de fase um segmento de reta em sua porção final. A presença desta reta implica na existência

de um comportamento exponencial, presente na porção final da curva temporal da PIVE. Utilizando técnica semelhante em músculo atrial, este mesmo resultado foi relatado por Vassallo & Paes de Carvalho (1979). Esses autores, entretanto, encontraram comportamentos distintos da inclinação θ na vigência de algumas intervenções inotrópicas, em relação aos dados apresentados neste trabalho.

O intervalo de tempo durante a fase de contração isovolumétrica e o intervalo de tempo compreendido durante a fase de relaxamento isovolumétrico são da ordem de 120 ms aproximadamente. Até poucos anos atrás não havia um mecanismo convincente que explicasse a rapidez da queda de pressão durante o relaxamento isovolumétrico. As hipóteses que embasavam os estudos dessa natureza investigavam as propriedades elásticas dos tecidos conectivos, os quais liberam a energia potencial armazenada durante a sístole precedente, provocando uma força de recolhimento elástico durante o relaxamento. Buckberg *et al.* (2006), analisando o encurtamento do músculo cardíaco *in vivo* baseado no modelo helicoidal da banda ventricular descrita por Torrent-Guasp, provou a existência de um componente ativo durante toda diástole. Sendo assim, a queda de pressão durante a fase de relaxamento isovolumétrico seria resultado de um mecanismo de sucção ativa acompanhada pelo recolhimento elástico dos tecidos conectivos circundantes. Com base nisso, fica claro identificar porque algumas intervenções inotrópicas realizadas em fibras atriais isoladas não alteraram ou até diminuíram θ , pois a velocidade ao final do relaxamento dependia única e exclusivamente do recuo elástico dos tecidos conectivos. O presente trabalho analisa o coração como um todo e, provavelmente, o relaxamento foi influenciado pela condição inotrópica, uma vez que há um componente ativo tanto na sístole quanto na diástole.

Para melhor compreensão dos mecanismos responsáveis pela queda de pressão durante a fase de enchimento ventricular, é necessário um detalhamento do conceito proposto por Torrent-Guasp, baseado na sua descoberta da banda miocárdica ventricular helicoidal.

1. A banda miocárdica ventricular helicoidal (BMVH) de Torrent-Guasp

O conceito proposto por Torrent-Guasp oferece novas ferramentas para explicar fenômenos mecânicos, baseado em sua descoberta da BMVH (Torrent-Guasp *et al.*, 2001; Torrent-Guasp *et al.*, 2005). Trata-se de um conceito completamente novo da anatomia cardíaca: o coração é configurado por uma única banda muscular com trajeto helicoidal desde a raiz da artéria pulmonar até a raiz da aorta, sendo classificada em segmentos direito, esquerdo, descendente e ascendente, como mostra a figura 1.



Figura 46: Banda miocárdica ventricular. A banda se estende da artéria pulmonar até a aorta e na porção medial sofre uma torção de 180°.

A seqüência de ativação contrátil segue preferencialmente pelas fibras musculares ao longo da banda muscular (condução anisotrópica) e essa propriedade é que garante a íntima relação entre a estrutura ventricular e sua função (Gerald *et al.*, 2004).

Estudos recentes têm demonstrado a seqüência de ativação através da BMVH através de transdutores ultra-sônicos de cristais localizados regionalmente ao longo dos segmentos (Rademakers *et al.*, 1992; Coghlan *et al.*, 2001; Buckberg *et al.*, 2006).

Além do padrão de condução anisotrópica, a direção predominante e o arranjo espacial das fibras musculares são determinantes da função mecânica, segundo esse modelo. Com a configuração helicoidal, é possível distinguir os quatro segmentos da BMVH devido às diferentes disposições de suas fibras, e, quando

cada segmento contrai de maneira sucessiva há um resultado mecânico durante o ciclo cardíaco (Torrent-Guasp, 2001), como será descrito a seguir.

O ciclo cardíaco

O coração produz, a cada batimento, uma seqüência de eventos mecânicos que levam a mudanças do volume e da pressão no interior das câmaras e das grandes artérias. Esta seqüência cronológica foi didaticamente descrita no início do século passado primeiramente por Wiggers (1915) e mais tarde por Lewis (1920).

A concepção anátomo-funcional do coração sugerida por Torrent-Guasp incorporou novos conhecimentos à clássica concepção sobre o ciclo cardíaco, uma vez que o ciclo de contração e relaxamento da banda miocárdica ventricular produz movimentos de torção e destorção levando a diferenças cruciais entre estes conceitos. A seguir, o novo conceito do ciclo cardíaco será apresentado nos moldes do clássico para o melhor entendimento das diferenças entre eles.

SÍSTOLE

Fase de compressão

Esta fase começa ao final da diástole, assim que haja aumento de pressão ventricular. O aumento de pressão inicial é produzido por contração de ambos os segmentos basais (esquerdo e direito), levando a um estreitamento transversal e centrípeto da base do cone ventricular. Enquanto isso, a região apical encontra-se ainda relaxada. Este período é a fase de contração isovolumétrica, segundo a clássica concepção.

Fase de ejeção

Sucessivamente à contração dos segmentos basais, ocorre a contração do segmento descendente que provoca três ações simultâneas: encurtamento do eixo longitudinal, rotação da base ventricular no sentido anti-horário e uma mudança no tamanho e na forma dos orifícios átrio-ventriculares. Essas ações causadas pela contração do segmento descendente produzem a ejeção do sangue para as grandes artérias. No conceito clássico, esse momento seria compreendido nas fases de ejeção rápida e lenta.

DIÁSTOLE

Fase de descompressão

Esta fase compreende o período entre o final da ejeção e a queda de pressão ventricular até que esta alcance o nível de pressão atrial. Começa nesta fase a contração parcial do segmento ascendente que leva ao retorno da orientação espacial da base ventricular com rotação no sentido horário. No conceito clássico, este período é considerado a fase de relaxamento isovolumétrico.

Fase de sucção

Finalmente, a última porção entra em atividade, o segmento ascendente, que dada as disposições de suas fibras, provoca um alongamento abrupto do eixo longitudinal, com simultânea rotação da base ventricular no sentido horário. Essa modificação espacial do coração, somada ao fechamento das valvas, cria uma força de sucção possibilitando o enchimento ventricular (Torrent-Guasp, 2001; Torrent-Guasp *et al.*, 2004 systolic ventricular filling; Torrent-Guasp *et al.*, 2005; Ballester-Rodés, 2006; Buckberg *et al.*, 2006). No conceito clássico, esta fase é considerada como fase de enchimento rápido.

DIASTASIS

Drenagem e fase de contração atrial

Durante este período a pressão se encontra baixa e uniforme como resultado do total relaxamento e repouso da banda ventricular miocárdica e precede a fase de contração atrial.

A definição clínica clássica da diástole determina que nesta fase haja relaxamento do miocárdio por completo. Entretanto, o tempo da queda de pressão durante o relaxamento é extremamente rápido e comparável ao tempo de aumento de pressão durante a sístole. Durante muito tempo, foi atribuído ao recolhimento elástico dos tecidos conectivos circundantes como sendo a força responsável pela queda de pressão, uma vez que durante o encurtamento das fibras musculares, o componente elástico estira e ao final da contração libera a energia potencial armazenada sob a forma de tensão (Brecher, 1958; Brutsaert & Sys, 1989; Brutsaert *et al.*, 1996), porém este mecanismo, por si só, não era convincente na questão temporal da queda de pressão para muitos pesquisadores.

A contração do segmento ascendente foi a chave para explicar a força responsável pelo enchimento ventricular. Sendo assim, a teoria proposta por Torrent-Guasp nos ajuda a compreender as alterações de θ , a qual aumentou com medidas inotrópicas positivas e diminuiu com medidas inotrópicas negativas, além disso acrescenta novos conhecimentos para a compreensão dos principais mecanismos da função diastólica do coração normal e anormal.

Uma propriedade do PF, já descrita na literatura é que sua porção final é um segmento de reta e sua inclinação (Θ) traduz a constante de velocidade do processo de relaxamento em sua fase exponencial (Vassallo & Paes de Carvalho, 1979; Eucker, AS *et al*, 2001). Dessa maneira, se a inclinação final = $1/t$, quanto menor o tempo de relaxamento, maior o valor da inclinação. Nos modelos propostos para este estudo, as características do componente elástico estão comprometidas, visto que foram observadas alterações em θ comparadas ao controle.

Outra propriedade do PF é a correspondência do valor de sua área com o trabalho cardíaco externo. A velocidade de encurtamento do músculo é inversamente proporcional à carga nele aplicada. Ao mover uma carga (força) através de uma dada distância (espaço) o músculo produz trabalho, sendo a potência contrátil representada pela velocidade de produção desse trabalho. Essas idéias propostas por Hill foram validadas por equações matemáticas e posteriormente confirmadas por Abbott & Mommaerts (1959). A $dP/dt_{\text{máx}}$ representa a velocidade de aumento da pressão intraventricular, sendo então proporcional à potencia contrátil.

Visto que a APF corresponde a $\sum dP/dt \times P$, espera-se que todas as intervenções inotrópicas positivas levem a um aumento da área e intervenções inotrópicas negativas levem à diminuição, uma vez que tais intervenções alteram de forma diretamente proporcional as variáveis dP/dt e/ou P , ou seja, a energia e/ou a potência. No presente trabalho, a afirmação acima se sucedeu de forma que a APF aumentou proporcionalmente com o estiramento, com aumento da concentração de Ca^{+2} extracelular e após a administração de isoproterenol, e diminuiu durante o aumento da frequência de estimulação. Porém, são necessários mais estudos no sentido de comparar e associar a APF com medidas “gold standard” de trabalho cardíaco externo e potência da bomba cardíaca.

Os modelos de hipertrofia utilizados neste trabalho tiveram comportamentos distintos entre si tanto na análise morfométrica quanto funcional. O grupo SHR apresentou aumento de peso do ventrículo esquerdo e da relação deste com o peso corporal, como já esperado. Segundo Engelmann *et al*. (1987), a partir de 1 mês de idade, os ratos espontaneamente hipertensos apresentam aumento do tamanho dos miócitos, da espessura da parede ventricular e da pressão arterial sanguínea. Os nossos resultados mostraram que os pesos seco e úmido dos pulmões, bem como a relação PP/PC também se apresentaram aumentadas nos animais do grupo SHR,

sugerindo um quadro de hipertensão pulmonar também presente nesses animais, acompanhado de edema perivascular e hipertrofia de vasos pulmonares (Aharinejad *et al.*, 1996).

A relação PVE/PC não foi diferente entre os grupos ISO e Veículo, o que poderia levar a suspeita de que não houve a hipertrofia miocárdica esperada. Murad e cols (2001), demonstraram que ratos pré-tratados por 8 dias com isoproterenol (0,3 mg/Kg/dia) desenvolvem hipertrofia dos miócitos, mas em contra-partida ocorre perda muscular e fibrose reparativa acentuada decorrente da ação de necrose causada pelo isoproterenol. Sendo assim, isso permite compreender o menor peso cardíaco e o comprometimento da função contrátil, bem como das propriedades diastólicas por conta da provável fibrose intersticial.

Justificada as razões pelas quais os modelos escolhidos poderiam alterar a função sistólica, bem como as características viscoelásticas do músculo cardíaco partimos para uma análise inicial através do PF numa situação basal de estabilização da preparação. Nossos resultados apontam para um aumento de θ nos grupos designados hipertrofiados. De acordo com Vassallo & Paes de Carvalho (1979), quanto maior o valor de θ significa um tempo de relaxamento isovolumétrico menor. Esses modelos de hipertrofia cardíaca evoluem com alterações cardíacas estruturais que afetam a complacência ventricular, sendo o principal determinante a fibrose intersticial e pericárdica, a qual exerce um impacto funcional na flexibilidade do miocárdio, principalmente durante a diástole (Doering, 1988; Jalil *et al.*, 1988; Jalil *et al.*, 1989; Carrol *et al.*, 1989).

Subsequentemente, a APF em situação de estabilização foi maior no grupo SHR comparado ao Controle. Isso se deve ao fato da função sistólica estar aumentada nesse grupo. Esse dado corrobora com dados da literatura que mostram uma melhor performance contrátil *in vivo* (Cingolani *et al.*, 2003), em papilares de VE (Mill *et al.*, 1997) e em fibras de VD (Manso *et al.*, 1999) de ratos espontaneamente hipertensos na mesma faixa etária estudada.

Com relação aos grupos ISO e Veículo, nossos dados mostraram semelhança entre as APF. Uma possível explicação para o fato é que a hipertrofia induzida pelo isoproterenol promove depressão do estado contrátil (Murad e cols, 2001), porém ela configura-se com o aumento da relação massa/volume. Reportando-se para a equação de Laplace ($P = 2\sigma r / R$) temos que: para uma mesma força gerada durante a contração, a pressão desenvolvida no interior da cavidade será tanto

maior quanto maior for a relação massa/volume. Portanto, a habilidade de variar pressão não diferiu entre esses grupos, inclusive durante as outras intervenções inotrópicas realizadas neste trabalho, com exceção da administração de isoproterenol.

2. Curva de função ventricular

A curva de função ventricular representa o mecanismo de Frank-Starling e baseia-se na propriedade intrínseca do miocárdio em variar sua força de contração em função da pré-carga imposta (Vassalo & Tucci, 1978). No coração isolado, isso é possível através do estiramento provocado pelo aumento da PD (Stefanon et al., 1990).

Os mecanismos que explicam a dependência do comprimento do sarcômero influenciando no trabalho cardíaco ainda não são totalmente desvendados. Esta capacidade intrínseca foi inicialmente explicada pela superposição ótima dos miofilamentos contráteis que o estiramento das fibras proporciona possibilitando um maior número de ligações cruzadas entre a miosina e actina (Huxley e Hanson, 1954). Em seguida, a sensibilidade dos miofilamentos ao Ca^{+2} aumenta mediada pela variação espacial e grau de sobreposição dos miofilamentos (Gordon *et al.*, 1966; Hibberd & Jewell, 1982) e mais especificamente, verificou-se que a troponina C cardíaca torna-se mais sensível ao cálcio quando o músculo é estirado e, esta sensibilidade é progressivamente aumentada em direção ao centro do sarcômero (Babu e Gulati, 1988; Gulati e cols., 1992). Recentes estudos explicam que a sensibilidade ao cálcio, sendo a base da relação de Frank-Starling, depende da redução do espaçamento lateral entre os miofilamentos (Fuchs e Smith, 2001). A titina é a proteína que permite a modulação deste espaçamento lateral, pois ela liga o miofilamento grosso à linha z do sarcômero, e pode ser estirada promovendo uma aproximação dos miofilamentos, e conseqüentemente maior probabilidade de formação de pontes cruzadas (Fukuda e cols., 2005). A relação de Frank Starling é explicada não só pelo aumento da sensibilidade dos miofilamentos, mas também pelo aumento gradual no transiente de cálcio (Allen e Kurihara, 1982) e por ativação de canais iônicos permeáveis ao Ca^{+2} e Na^{+} sensíveis ao estiramento (Tavi e cols., 1998).

O efeito inotrópico positivo observado foi acompanhado do aumento gradativo da APF (vide figura 9), uma vez que o mecanismo de Frank-Starling exerce influência sobre a PSI e a $\text{dP/dt}_{\text{máx}}$. Noble (1992), considera com ênfase a $\text{dP/dt}_{\text{máx}}$ sendo índice de contratilidade miocárdica e considera favorável o fato dela ocorrer durante a sístole isovolumétrica, uma vez que nesse período as modificações das

dimensões do VE são desprezíveis. Segundo Okoshi & Tucci (1996), isso cria uma proporcionalidade direta entre a pressão intraventricular e a tensão parietal: $F = aP$, sendo “a” uma constante dependente das dimensões ventriculares. Dessa forma, $dP/dt = dF/dt \cdot a^{-1}$, assim, expandindo o volume da cavidade, o mecanismo de Frank-Starling promove elevação da dF/dt e de a, levando como resultado final o aumento da dP/dt .

Durante a curva de função ventricular, Θ sofreu aumentos significantes em todos os grupos. Langer & Schimidt (1998) demonstraram que a constante de tempo (τ) da queda de pressão exponencial isovolumétrica sofre alterações sob influência da pré-carga. Segundo Huxley & Simons (1973), a constante de tempo de relaxamento reflete mais a interação entre os elementos passivos e ativos do que o controle da interação actina-miosina. Dados obtidos em corações isolados de coelhos suportam essa idéia e acrescentam que a queda exponencial da pressão depende do volume diastólico final (Schierack *et al.*, 1987). Sys & Brutsaert (1989) especulam que o declínio da força durante a fase final do relaxamento isovolumétrico é modulado pelo comprimento do músculo, considerando que a influência do estiramento e da força são capazes de alterar a sensibilidade dos miofilamentos ao Ca^{+2} .

Ao contrário dos nossos resultados, Vassallo & Paes de Carvalho (1979), não observaram alteração de Θ com o estiramento. Essa divergência se deve ao fato de que os resultados desses autores foram obtidos de fibras atriais, excluindo então a hipótese postulada por Torrent-Guasp (2001) que se aplica ao coração como um todo. Seguindo o modelo da banda ventricular helicoidal, Buckberg *et al.* (2006) analisaram o encurtamento do músculo cardíaco nos segmentos ascendente e descendente durante a fase de relaxamento isovolumétrico e mostraram encurtamento máximo das fibras do segmento ascendente durante esta fase. De acordo com esses dados, o efeito inotrópico positivo causado pelo estiramento acelera a velocidade do relaxamento por seu caráter ativo durante toda duração do ciclo.

3. Resposta inotrópica ao Ca^{+2} extracelular

O aumento na concentração extracelular de Ca^{+2} resultou no aumento da PSI, da $dP/dt_{\text{máx}}$, e então, consequentemente da APF em todos os grupos. Um estudo anterior realizado no nosso laboratório demonstrou a relação entre a concentração de Ca^{+2} extracelular e a PSI em corações isolados (Stefanon *et al.*, 1989). Os canais de cálcio voltagem-dependente do sarcolema são abertos com o potencial de ação ventricular de maneira que quanto maior a concentração de cálcio extracelular, maior o transiente sarcolemal de cálcio, e, por conseguinte, maior a liberação de cálcio-cálcio induzida pelos canais de rianodina do RS (Marin *et al.*, 1999) provocando o aumento citosólico deste íon, o qual ativa a interação entre os miofilamentos e, portanto, maior o desenvolvimento de força muscular. Dessa maneira, nossos dados demonstram que as variações da APF retrataram as variações da performance contrátil nas 3 concentrações subseqüentes.

Nossos dados mostraram aumento de θ de acordo com o aumento da concentração extracelular de Ca^{+2} , porém esses dados são controversos na literatura. Sys & Brutsaert (1989) estudaram a influencia do comprimento muscular e do Ca^{+2} no declínio da força durante o relaxamento em músculos papilares e notaram uma invariância na constante de tempo em função de mudanças na concentração extracelular de Ca^{+2} . Assim como Mattiazzi *et al.* (1986), que não encontraram diferença significativa entre as concentrações de 1.34 e 3.5 mM. Vassallo & Paes de Carvalho (1979) avaliaram θ e a velocidade máxima de encurtamento ($V_{\text{máx}}$) em músculo atrial esquerdo de coelhos nas concentrações extracelulares de Ca^{+2} de 2.5 e 7.5 mM e detectaram aumento significativo somente na $V_{\text{máx}}$.

É importante ressaltar que esses resultados controversos foram obtidos experimentalmente em fibras isoladas de músculo cardíaco, o que lhes confere comportamentos de contração e relaxamento independentes na vigência de intervenções inotrópicas.

Como já explicitado anteriormente, a mecânica do coração isolado sofre a ação agonista e antagonista dos segmentos descendente e ascendente, respectivamente, durante o ciclo cardíaco, de forma que a velocidade do relaxamento isovolumétrico é totalmente influenciada pelo componente contrátil. Sendo assim, o efeito inotrópico positivo provocado por concentrações crescentes

de Ca^{+2} acelera não só a fase sistólica como a diastólica, incrementando a velocidade de relaxamento e, conseqüentemente aumentando a inclinação θ .

Um fato interessante observado foi que a variação de θ da concentração extracelular de Ca^{+2} de 1,25 para 2.5 mM foi muito discreta nos grupos hipertrofiados. Isso se deve à alteração da homeostase do Ca^{+2} , porém essas mudanças não são uniformes dentre os modelos de hipertrofia. No modelo renovascular, o influxo transmembrana de Ca^{+2} está aumentado (Keung, 1989) e encontra-se inalterado na hipertensão induzida por constricção da aorta (Scamps *et al.*, 1990). O processo de hipertrofia induzida pelo isoproterenol conta com a participação de vias de sinalização, destacando-se, além da ativação dos receptores-beta e da proteína G, o incremento do AMP cíclico, da fosfolipase, fosfoquinase protéica A e do Ca^{+2} intracelular (Bristow *et al.*, 1989), além de aumentar a captação de Ca^{+2} pelo RS (Fleckenstein, 1971). De acordo com Brooksby *et al.* (1993), a homeostase do Ca^{+2} está alterada no SHR, inclusive o conteúdo de Ca^{+2} do RS é maior, o que nos leva a considerar que essa alteração, na presença de altas concentrações extracelulares de Ca^{+2} , provoca um fenômeno de saturação, onde a resposta pouco se altera. Corroborando com esta afirmação, Vassallo *et al.* (1994), mostraram que a resposta inotrópica positiva ao isoproterenol, em corações isolados de ratos, muda em função da concentração extracelular de Ca^{+2} , de maneira que tais efeitos são reduzidos quanto maior for a concentração extracelular de Ca^{+2} .

4. Resposta β -adrenérgica

Outra intervenção que gerou aumento significativo da APF em todos os grupos foi a administração de isoproterenol. Esse fármaco atua nos receptores β -adrenérgicos que ativam proteínas G, e daí a adenilil ciclase. Esta última aumenta o AMPc mioplasmático, que por sua vez ativa a proteína quinase A, a qual fosforila vários sítios dentro da célula como os canais de Ca^{+2} tipo L, o fosfolamban, e a troponina I. Essa seqüência de ativações resultam em efeito inotrópico e lusitrópico positivo (Strang, KT *et al.*, 1994; Sulakhe & Vo, 1995). O fato do grupo ISO ter respondido com a menor variação percentual da APF se deve à estimulação crônica β -adrenérgica, a qual vem acompanhada de *downregulation* e dissensibilização dos receptores β -adrenérgicos e *upregulation* de proteínas G inibitórias, e dessa forma, acarretando um efeito inotrópico e lusitrópico positivo atenuado após estímulo β -adrenérgico (Stein *et al.*, 1996; Tse *et al.*, 1979).

O estímulo β -adrenérgico determinou claramente um efeito inotrópico e lusitrópico positivo em todos os grupos, sendo atenuado no grupo ISO. Destaque para o valor relativo de $dP/dt_{\text{máx}}$ desse grupo foi menor após a administração de Isoproterenol, enquanto os outros grupos tiveram um aumento de mais de 150%.

O desempenho cardíaco em resposta a estimulação β -adrenérgica representado pela APF foi maior nos SHR. Esses dados corroboram com os de Manso *et al.* (1999), que obtiveram maior força de contração em fibras de VD de SHRs estimuladas por isoproterenol numa curva concentração resposta de 10 nM a 10 μM comparados ao controle.

Com relação à avaliação de θ , houve um aumento significativo nos quatro grupos, sendo percentualmente menor no grupo ISO justamente pela sua menor resposta ao estímulo β -adrenérgico.

O aumento da velocidade de relaxamento após a administração de isoproterenol levou ao aumento de θ , o já era esperado, uma vez que a estimulação β -adrenérgica garante não só um efeito inotrópico, mas também lusitrópico positivo pelas vias descritas acima. Esses dados corroboram com os de Gaash *et al.* (1980) que encontraram diminuição no valor da constante de tempo do relaxamento isovolumétrico em 32 cães anestesiados após a infusão de isoproterenol. Além disso, recentes estudos têm demonstrado acentuação da atividade dos segmentos

da banda ventricular helicoidal por ação de catecolaminas *in vivo* (Rademakers et al., 1992; Buckberg *et al.*, 2006).

5. Curva de frequência

Foi observada diminuição da APF de acordo com os incrementos da frequência de estimulação em todos os grupos, caracterizando um “efeito escada negativo”, como esperado. Esses dados corroboram com os de Marin & Franchini, (2005) que perfundiram corações isolados de ratos com solução de cristalóides, estimularam eletricamente nas frequências de 180, 240 e 300 bpm e observaram diminuição significativa da PSI nas duas últimas frequências de estimulação. Na comparação entre os grupos Controle e SHR, este último apresentou seus PF com áreas maiores em todas as frequências, uma vez que sua capacidade contrátil é maior nessa idade, como já discutido anteriormente.

A inclinação θ também sofreu aumentos significativos sob o efeito do aumento da frequência de estimulação em todos os grupos de maneira uniforme. O relaxamento acelera em resposta ao aumento de frequência, não só pela alta eficiência na recaptação de Ca^{+2} pela SERCA2a, mas também por diminuição da sensibilidade dos miofilamentos ao Ca^{+2} (Varian & Janssen, 2007).

CONCLUSÃO

Conclusão

- A hipertrofia do ventrículo esquerdo em SHR e o tratamento crônico com ISO modificam a velocidade da queda de pressão isovolumétrica. Isto se traduziu por aumento da inclinação θ .
- Com relação aos efeitos inotrópicos, o aumento da inclinação parece estar ligado mais diretamente ao aumento da velocidade da queda de pressão isovolumétrica.
- O comportamento da APF contextualizou as situações em que os corações foram submetidos, no que diz respeito ao T_{sist} . Apesar do modelo matemático proposto, serão necessários estudos que comparem este método com medidas “gold standart” do T_{sist} .

Em conclusão, os resultados obtidos no presente trabalho apontam o Plano de Fase como uma ferramenta de análise das propriedades passivas no músculo cardíaco, bem como da mecânica de contração e relaxamento muscular. Além disso, esse método, baseado num modelo matemático ideal da curva de pressão isovolumétrica, pode inferir dados sobre o trabalho sistólico, porém são necessários mais estudos comparativos com medidas “gold standart”.

REFERÊNCIAS

Referências

Abbott, BC; Mommaerts, WM. A study of inotropic mechanisms in the papillary muscle preparation. *J. Gen. Physiol.*, 1959; 42: 533-51.

Aharinejad, S; Schraufnagel, DE; Böck, P; MacKay, CA; Larson, EK; Miksovsky, A; Marks, SCJ. Spontaneously hypertensive rats develop pulmonary hypertension and hypertrophy of pulmonary venous sphincters. *Am. J. Pathol.*, 1996; 148 (1): 281-90.

Allen, DG; Kentish, JC. The cellular basis of the length-tension relation in cardiac muscle. *J Mol Cell Cardiol*, 1985; 17: 821: 40.

Allen, DG & Kurihara, S. The effects of muscle length on intracellular calcium transients in mammalian cardiac muscle. *J Physiol*, 1982; 327: 79-94.

Babu, A & Gulati, J. Critical role of cardiac troponin-C in length-dependence of in skinned ventricular trabeculae from hamster heart. *J Physiol*, 1998; 403: 89P.

Braunwald, E; Zipes, DP; Libby, P. Tratado de medicina cardiovascular, 6^aed, Editora Roca, 2003.

Brecher GA. Critical review of recent work on ventricular diastolic suction. *Circ Res.*, 1958; 6: 554–66.

Brutsaert DL, Sys SU. Relaxation and diastole of the heart. *Physiol Rev.*, 1989; 69: 1228–315.

Brutsaert DL, Stanislas U, Gillibert TC. Diastolic failure: pathophysiology and therapeutic implications. *J Am Coll Cardiol* ., 1993; 22: 318–25.

Bristow, MR; Hershberger, RE; Port JD; Minobe, W; Rasmussen, R. Beta 1- and beta 2-adrenergic receptor-mediated adenylate cyclase stimulation in nonfailing and failing human ventricular myocardium. *Mol. Pharmacol.*, 1989; 35 (3): 295-303.

Brogan WC, Hillis D, Flores ED, et al. The natural history of isolated left ventricular diastolic dysfunction. *Am J Méd.*, 1992; 92: 627-30.

Brooksby, P; Levi, AJ; Jones, JV. The electrophysiological characteristics of hypertrophied ventricular myocytes from the spontaneously hypertensive rat. *J. Hypertens.*, 1993; 11: 611-22.

Buckberg, GD; Castellá, M; Gharib, M; Saleh, S. Active Myocyte shortening during the “isovolumetric relaxation” phase of diastole is responsible for ventricular suction; “systolic ventricular filling”. *EJCTS*, 2006; 29S: S98-S106.

Carrol, EP; Janicki, JS; Pick, R; Weber, KT. Myocardial stiffness and reparative fibrosis following coronary embolization in the rat. *Cardiovasc Res*, 1989; 23: 655 – 661.

Chen, CH et al. Comparison of continuous left ventricular volume by transthoracic two-dimensional digital echo quantification with simultaneous conductance catheter measurements in patients with cardiac diseases. *Am J Cardiol.*, 1997; 80: 756-61.

Cingolani, OH; Yang, XP; Cavaasin, MA; Carretero, OA. Increased systolic with diastolic dysfunction in adult spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 2003; 41: 249-54.

Coghlan, D; Coghlan, AR; Buckberg, GD; Gharib, M; Cox, JL. The structure and function of the helical heart and its buttress wrapping. III. The electrical spiral of the heart: the hypothesis of the anisotropic conducting matrix. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*, 2001; 13: 333-41.

Doering CW. Collagen network remodeling and diastolic stiffness of the rat left ventricle with pressure overload hypertrophy. *Cardiovasc Res*, 1988; 22: 686 – 695.

Engelmann, GL; Vitullo, JC; Gerrity, RG. Morphometric analysis of cardiac hypertrophy during development, maturation, and senescence in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res*, 1987; 60 (4): 487-94.

Eucker, SA; Lisaukskas, JB; Singh, J; Kovács, SJ. Phase plane analysis of left ventricular hemodynamics. *J Appl Physiol*, 2001; 90: 2238-2244.

Fleckenstein, A. Pathophysiological causal-factors of myocardial necrosis and infarct. *Wien Z Inn Med*, 1971; 52 (3): 133-43.

Fukuda, N & Granzier, H. Titin/connectin-based modulation of the Frank-Starling mechanism of the heart. *J Musc Res Cell Motility*, 2005; 26:319–23.

Gaash, WH; Blaustein, AS; Andrias, CW; Donahue, RP; Avitall, B. Myocardial relaxation. II. Hemodynamic determinants of rate of left ventricular isovolumic pressure decline. *Am. J. Physiol.*, 1980; 239: H1-H6.

Gerald, D; Buckberg, GD; Myron, L; Weisfeldt, ML; Ballester, M; Beyar, R; Burkhoff, D; Coghlan, HC; Doyle, M; Epstein, ND; Gharib, M; Ideker, RE; Ingels, NB; LeWinter, MM; McCulloch, AD; Pohost, GM; Reinlib, LJ; Sanh, DJ; Spinale, FG; Spotniz, HM; Sopko, G, Torrent-Guasp, F; Shapiro, EP. Left ventricular form and function: scientific priorities and strategic planning for development of new views of disease. *Circ.*, 2004; 110:e333-36.

Gordon, AM; Huxley, AF; Julian, FJ. Tension development in highly stretched vertebrate muscle fibers. *J. Physiol.*, 1966; 184: 143-69.

Grossman, W; Jones, D; McLaurin, LP. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *J Clin Invest*, 1975;56:56-64.

Grossman, W. Cardiac hypertrophy: useful adaptation or a pathologic process? *Am J Méd*, 1980; 69: 576-84.

Gulati, J; Babu, A; Su, H. Molecular physiology of the length-dependence of the Ca^{++} -sensitivity of skinned fibers with a high affinity Tn-C-mutant: implications for Starling's Law. *Suplement to Circulation*, 1992; 86: 327.

Helmes, M; Trombitas, K; Granzier, H. Titin develops restoring force in rat cardiac myocytes. *Circ Res*, 1996; 79 (3): 619-26.

Hibberd, MG; Jewell, BR. Calcium and length-dependence force production in rat ventricular muscle. *J. Physiol.*, 1982; 329: 527-40.

Huxley, AF & Hanson, J. Changes in cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation. *Nature*, 1954; 173: 973-76.

Huxley, AF; Simmons, RM. Mechanical transients and the origin of muscular force. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 1973; 37: 669-80.

Jalil, JE; Doering, CW; Janicki, JS; Pick, R; Clarck, WA; Weber, KT.: Strutural vs. Contractile protein remodeling and miocardial stiffness in hypertrophied rat left ventricle. *J Moll Cell Cardiol*, 1988; 20: 1179 – 1187.

Jalil, JE; Doering, CW; Janicki, JS; Pick, R; Fibrillar collagen and myocardial stiffness in the intact hypertrophied rat left ventricle. *Circ Res*, 1989; 64: 1041 – 1050.

Keung, EC. Calcium current is increased in isolated adult myocytes from hypertrophied rat myocardium. *Circ Res*, 1989; 64: 753-63.

Langer, SF; Schmidt, HD. Different left ventricular relaxation parameters in isolated working rat and guinea pig hearts. Influence of preload, afterload, temperature, and isoprenaline. *Int. J. Card. Imaging*, 1998; 14 (4): 229-40.

Leite-Moreira, AF. Current perspectives in diastolic dysfunction and diastolic heart failure. *Heart Failure*, 2006; 92: 712-18.

Manso, A M; Encabo, A; Ferrer, M; Balfagón, G; Salaices, M; Marin, J. Changes of cardiac calcium homeostasis in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Autonomic Pharmacology*, 1999; 19 (2): 123–30. Marin, RM; Franchini, KG. Reduced oxygen supply explains the negative force-frequency relation and the positive inotropic effect of adenosine in buffer-perfused hearts. *Am J Heart Circ. Physiol.*, 2005; 289: H131-36.

Marin, J; Encabo, A; Briones, A; Garcia-Cohen, E.-C; Alonso, M.J. Mechanisms involved in the cellular calcium homeostasis in vascular smooth muscle: calcium pump. *Life Sci.*, 1999; 64: 279- 303.

Mattiazzi, A; Garay, A; Cingolani, HE. Critical evaluation of isometric indexes of relaxation in rat and cat papillary muscles and toad ventricular strips. *J Mol Cell Cardiol*, 1986; 18 (7): 749-58.

Mill, JG; Novaes, MAS; Galon, M; Nogueira, JB; Vassallo, DV. Comparison of the contractile performance of the hypertrophied myocardium from spontaneous hypertensive rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol*, 1998; 76: 387-94.

Murad, N; Franco, MF; Tucci, PJF. Caracterização funcional da hipertrofia miocárdica induzida pelo isoproterenol e de sua regressão. *Arq. Bras. Cardiol.*, 2001; 77: 51-8.

Noble, MIM. Engineering and physiological approaches to the study of cardiovascular function: alternative or complementary? *Cardiovasc Res*, 1992; 26: 218-20.

Okoshi, K; Tucci, PJF. Mecanismo de Frank-Starling e a Primeira Derivada Temporal de Pressão Ventricular (DP/DT). *Arqu Bras Cardiol*, 1996; 66 (4): 233-37.

Rademakers, FE; Buchalter, MB; Rogers, WJ; Zerhouni, EA; Weisfeldt, ML; Weiss, JL; Shapiro, EP. Dissociation between left ventricular untwisting and filling. Accentuation by catecholamines. *Circulation*, 1992; 85 (4): 1572-81.

Scamps, F; Mayoux, E; Charlemagne, D; Vassort, G. Calcium current in single cells isolated from normal and hypertrophied rat heart. Effects of beta-adrenergic stimulation. *Circ Res*, 1990; 67(1):199-08.

Schiereck, P; Nieuwenhuijs, JH; de Beer, EL; Van Hessen, MW; Van Kaam, FA; Crowe, A. Relaxation time constant of isolated rabbit left ventricle. *Am J Physiol*, 1987; 253 (3 Pt 2): H512-8.

Stefanon, I; Vassallo, DV; Mill, JG; Abaurre, PF; Pelloso, RA. The relationship between extracellular calcium and isovolumic systolic pressure in the Langendorff-perfused rat heart. *Bras. Med. Biol. Res.*, 1989; 22 (7): 905-07.

Stefanon, I; Vassallo, DV; Mill, JG. Left ventricular length dependent activation in the isovolumetric rat heart. *Cardiovasc Res.*, 1990; 24(3): 254-6.

Stein, B; Bartel, S; Kirchhefer, U; Kokott, S; Krause, EG; Neumann, J; Schmitz, W; Scholz, H. Relation between contractile function and regulatory cardiac proteins in hypertrophied hearts. *Am. J. Physiol.*, 1996; 270 (39): H2021-H2028.

Stelzer, JE; Moss, RL. Contributions of stretch activation to length-dependent contraction in murine myocardium. *J. Gen. Physiol.*, 2006; 128 (4): 461-71.

Strang, KT; Sweitzer, NK; Greaser, ML; Moss, RL. β -adrenérgic receptor stimulation increases unloaded shortening velocity of skinned single ventricular myocyte from rats. *Circ Res*, 1994; 74: 542-49.

Sulakhe, PV; Vo, XT. Regulation of phospholamban and troponin-I phosphorylation in the intact rat cardiomyocytes by adrenergic and cholinergic stimuli: roles of cyclic nucleotides, calcium, protein kinases and phosphatases and depolarization. *Mol Cell Biochem.*, 1995; 149-150: 103-26.

Sys, SU; Brutsaert, DL. Determinants of force decline during relaxation in isolated cardiac muscle. *Am J Physiol.*, 1989; 257 (5 Pt 2):H1490-97.

Tavi, P; Han, C; Weeckstrom, M. Mechanisms of stretch-induced changes in [Ca] in rat atrial myocytes: Role of increased troponin C affinity and stretch-activated ion channels *Circ Res*, 1998; 83: 1165-1177.

Torrent-Guasp, F. La mecánica agonista-antagonista de los segmentos descentente y ascendente de la banda miocárdica ventricular. *Rev Esp Cardiol*, 2001; 54: 1091-02.

Torrent-Guasp, F; Ballester, M; Buckberg, GD; Carreras, F; Flotats, A; Carrió, I; Ferreira, A; Samuels, LE; Narula, J. Spatial orientation of the ventricular muscle band. Physiologic contribution and surgical implications. *JTCS*, 2001; 122: 389-92.

Torrent-Guasp, F; Kocica, MJ; Corno, AF; Komeda, M; Carreras-Costa, F; Flotats, A; Cosin-Aguillar, J; Wen, H. Towards new understanding of the heart structure and function. *EJCTS*, 2005; 27:191-01.

Tse, J; Powell JR; Baste, CA; Priest, RE; Kuo, JF. Isopreterenol-induced cardiac hypertrophy: modifications in characteristics of beta-adrenergic receptor, adenylate cyclase, and ventricular contraction. *Endocrinol*, 1979; 105 (1): 246-55.

Varian, KD; Janssen, PML. Frequency-dependent acceleration of relaxation involves decreased myofilament calcium sensitivity. *Am. J. Heart Circ. Physiol.*, 2007; 292: H2212-H2219.

Vassalo, DV; Tucci, PJ. Intensity of action of inotropic interventions in different degrees of myofibril stretch; apparent interrelation between the Frank-Starling mechanism and cardiac inotropism. *Arq Bras Cardiol*, 1978; 31(3): 155-8.

Vassalo, DV; Paes de Carvalho, A. Phase plane determination of the mechanical properties of the miocardium. *Acta Physiol Latinoam.*, 1979; 29: 137-149.

Vassallo, DV; Lima, EQ; Campagnaro, P; Stefanon, I; Leite, CM; Mill, JG. Effects of isoproterenol on the isolated papillary and perfused rat hearts in various calcium concentrations. *Pharmacol. Res.*, 1994; 29 (3): 251-60.

Weiss JL, Frederiksen JW, Weisfeldt ML. Hemodynamics determinants of the time course of fall in canine left ventricular pressure. *J Clin Invest.*, 1976; 58: 751.

Zile, MR; Baicu, CF; Bonnema, DD. Diastolic heart failure: definitions and terminology. *Prog Cardiovasc Dis*, 2005; 47 (5): 307-13.

Wiggers CJ. Studies on the consecutive phases of the cardiac cycle. *Am J Physiol* 1921; 56: 415–59.